

ULTRASCHALLUNTERSUCHUNGEN
ZUR OVULATIONS DIAGNOSE
FÜR DIE KÜNSTLICHE BESAMUNG
DER STUTE

Klaus Will

Disbui. München

1988



Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Lehrstuhl: Professor Dr. W. Leidl

**ULTRASCHALLUNTERSUCHUNGEN ZUR OVULATIONS DIAGNOSE
FÜR DIE KÜNSTLICHE BESAMUNG DER STUTE**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Klaus Will
aus
Ludwigshafen/Rh.

München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. W. Leidl

Korreferent: Prof. Dr. H. Kräußlich

Tag der Promotion: 26. Februar 1988

1. Vorwort

2. Literatur

2.1. Die Vorkursveranstaltungen des Instituts

2.1.1. Der Vorkursunterricht

2.1.2. Die Seminararbeit

2.1.3. Die Tutorien

2.1.4. Die Seminare

2.2. Die Vorkursveranstaltungen

2.2.1. Seminare und Vorkursveranstaltungen

2.2.2. Seminare

Meinen Eltern

2.2.3. Seminare

2.2.4. Seminare und Vorkursveranstaltungen

2.2.5. Seminare

2.2.6. Seminare und Vorkursveranstaltungen

2.2.7. Seminare und Vorkursveranstaltungen

2.2.8. Seminare und Vorkursveranstaltungen

2.2.9. Seminare und Vorkursveranstaltungen

3. Die Vorkursveranstaltungen

3.1. Seminar

3.1.1. Seminar

3.1.2. Seminar und Vorkursveranstaltungen

3.1.3. Seminar für die Vorkursveranstaltungen

3.1.4. Seminar für die Vorkursveranstaltungen

3.2. Seminar

3.2.1. Seminar und Vorkursveranstaltungen

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Literatur	2
2.1. Die Fortpflanzungsbiologie der Stute	2
2.1.1. Das Zyklusgeschehen	2
2.1.2. Die Ovarien	4
2.1.2.1. Die Follikel	6
2.1.2.2. Die Ovulation	8
2.2. Die Ultraschalluntersuchung	11
2.2.1. Geschichte der Ultraschalldiagnostik	11
2.2.2. Allgemeines	12
2.2.2.1. Physikalische Prinzipien	12
2.2.2.2. Interpretation von Ultraschallbildern eines B-mode-Gerätes	15
2.2.2.3. Unbedenklichkeit des Ultraschalls	17
2.2.3. Anwendungen des Ultraschalls bei der Ovardia- gnostik unter speziellen Aspekten der Ovulation	19
2.3. Progesteronbestimmungen	20
3. Eigene Untersuchungen	23
3.1. Material	23
3.1.1. Stuten	23
3.1.2. Blut- und Milchproben	24
3.1.3. Geräte für die Ultraschalluntersuchungen	25
3.1.4. Gerät für die Progesteronbestimmungen	25
3.2. Methodik	26
3.2.1. Rektale Untersuchung	26

3.2.2.	Ultraschalluntersuchung	26
3.2.3.	Bestimmungsmethoden des Progesterons	29
3.2.3.1.	Enzymimmunoassay	29
3.2.3.2.	Radioimmunoassay	30
3.2.4.	Statistische Berechnungen	30
3.3.	Ergebnisse der rektalen manuellen und Ultraschalluntersuchungen an den Ovarien	30
3.3.1.	Definition der Ovulation	30
3.3.2.	Größenentwicklung des präovulatorischen Follikels	33
3.3.3.	Anzahl der Follikel	39
3.3.4.	Änderungen der Follikelwand, der Echogenität der Follikelflüssigkeit und der Gestalt der präovula- torischen Follikel	40
3.3.5.	Cumulus oophorus	43
3.3.6.	Konsistenzänderungen der Follikel	45
3.3.7.	Vorhersage der Ovulation	47
3.3.8.	Ovulationen in Relation zum Rosseende	49
3.3.9.	Rechts - Links - Verteilung der Ovulationen	50
3.3.10.	Tag - Nacht - Verteilung der Ovulationen	50
3.3.11.	Doppelovulationen	51
3.4.	Ergebnisse der Progesteronbestimmungen	52
3.4.1.	Ergebnisse des Enzymimmunoassays	53
3.4.2.	Ergebnisse des Radioimmunoassays	56
3.4.2.1.	Progesteronwerte im Blutplasma	56
3.4.2.2.	Progesteronwerte in der Milch	56
3.4.3.	Progesteronwerte im Vergleich bei Einzel- und Doppelovulationen	58

4.	Diskussion	61
5.	Zusammenfassung	75
6.	Summary	77
	"Ultrasonic examinations for predicting the ovulation for the artifical insemination in the mare"	
7.	Literaturverzeichnis	79

Lebenslauf

1. Einleitung

In der Pferdezucht ist die künstliche Besamung mit Tiefgefriersperma aus folgenden Gründen interessant:

- Innerhalb einer kurzen Decksaison kann die Zahl der von einem Hengst belegten Stuten erhöht werden.
- Die Hengste können während der Decksaison im Leistungssport bleiben.
- Geographische Entfernungen können leicht überbrückt werden.

Dennoch wird die künstliche Besamung mit Tiefgefriersperma beim Pferd bisher nur selten eingesetzt. Wirtschaftliche Aspekte spielen dabei ebenso eine Rolle wie fortpflanzungsbiologische Besonderheiten. Die Befruchtungserfolge mit Tiefgefriersperma liegen bei 50 %. Sie hängen ab von:

- der termingerechten Sameneinführung in Ovulationsnähe,
- der Befruchtungsfähigkeit des verwendeten Spermas,
- der Gesundheit und Konzeptionsbereitschaft der Empfängerstuten.

Da das Konzeptionsoptimum und damit der Besamungszeitpunkt in zeitlicher Nähe zum Ovulationszeitpunkt liegt, ist die Vorhersage der Ovulation ein zentrales Problem in der künstlichen Besamung.

Im Verlauf dieser Arbeit wird versucht, durch Verwendung von modernen Techniken wie der Ultraschalldiagnostik und der Progester-



ronbestimmung Kriterien zu finden, die eine Vorhersage des Ovulationszeitpunktes ermöglichen.

2. Literatur

2.1. Die Fortpflanzungsbiologie der Stute

2.1.1. Das Zyklusgeschehen

Bei Stuten ist ein deutlicher jahreszeitlicher Rhythmus der Fortpflanzung zu erkennen (MERKT 1970). Sie sind saisonal polyöstrische Tiere (DeBOIS und NITSCHELM 1982, SCHAETZ 1982), bei denen eine ovulatorische und eine anovulatorische Saison unterschieden werden (GINTHER 1979). Die Ovulationsraten sind von der Jahreszeit abhängig - im Winter gering, im Frühjahr ansteigend, im Sommer ihr Maximum erreichend und danach wieder abfallend. Daraus resultiert das für eine Konzeption am besten geeignete Zyklusgeschehen in den Monaten April bis Juni (GINTHER 1979, DeBOIS und NITSCHELM 1982).

Der Zyklus der Stute dauert 20 - 22 Tage, wobei jahreszeitliche Abhängigkeiten und starke individuelle Schwankungen zu beobachten sind. Auf den Östrus entfallen 4 - 7 Tage und auf den Diöstrus 15 - 16 Tage (GINTHER et al. 1972, HUGHES et al. 1975, ROSSDALE

und RICKETTS 1983). An den letzten beiden Tagen des Östrus kommt der Großteil der Follikel zur Ovulation (MERKT 1970, STABENFELDT und HUGHES 1977, GINTHER 1979).

Der Östrus der Stute ist äußerlich an einer meist leicht geschwellenen Scham mit geröteter und vermehrt feuchter Schleimhaut zu erkennen (MERKT 1970). Die Brunsterscheinungen äußern sich bei den Stuten in individuell unterschiedlichen Verhaltensweisen. Dazu gehören das Dulden von Berührungskontakten, das Heben des Schweifes, das häufige Absetzen von kleinen Harnmengen, das sogenannte "Blitzen" und die Bereitschaft zur Bedeckung (GINTHER 1979, DeBOIS und NITSCHHELM 1982, SCHAEZT 1982, ROSSDALE und RICKETTS 1983).

Für sich alleine sind diese Verhaltensweisen keine eindeutigen Indikatoren für eine Rosse. Eine große Variationsbreite der Rosseanzeichen in ihrer Art, Häufigkeit, Intensität und Dauer erschweren eine Standardisierung. Nach GINTHER (1979) ist die Kombination von Dulden, Blitzen, Schweifheben und Aufkrümmen des Rückens am sinnvollsten, um die Rosse festzustellen. Mit dieser Kombination werden 84,1 % der Stuten mit Rosseerscheinungen richtig als in Rosse befindlich erkannt. Eine zunehmende Intensität der Brunsterscheinungen zur Ovulation hin konnte - im Gegensatz zu anderen Autoren (ANDREWS und MCKENZIE 1941, NISHIKAWA 1959) - von GINTHER (1979) nicht bestätigt werden.

Einzelne Stuten (ca. 7,5 %) zeigen nur undeutliche äußere Östruserscheinungen, bilden aber befruchtungsfähige Eizellen und ovulieren (= stille Rosse). Bei anderen Stuten setzen die äußeren Rosseerscheinungen aus und unterbrechen damit den Östrus (= Sub-Östrus). Die Follikelentwicklung an den Ovarien läuft dabei aber weiter. Die Ursachen für diese verminderten Östrusanzeichen sind bisher ungeklärt (GINTHER 1979).

Zwischen Stuten mit eindeutigen und solchen mit nicht eindeutigen Rosseerscheinungen konnten keine Unterschiede in bezug auf die Follikeldynamik festgestellt werden (GINTHER 1979). Es existieren auch keine Hinweise, daß die morphologische Entwicklung der Follikel eine Rolle für die Rosseerscheinungen spielt. Interessant ist, daß verminderte Östrusanzeichen individuell gehäuft vorkommen.

2.1.2. Die Ovarien

Die Ovarien der Stute liegen im Abdomen in Höhe des 3. und 4. Lendenwirbels und sind somit für die Untersuchung per rectum gut zugänglich.

Im Vergleich zu Nicht-Equiden - beispielsweise zum Rind - zeigt das Ovar der Stute einige Besonderheiten im Aufbau (Abb.1). Das

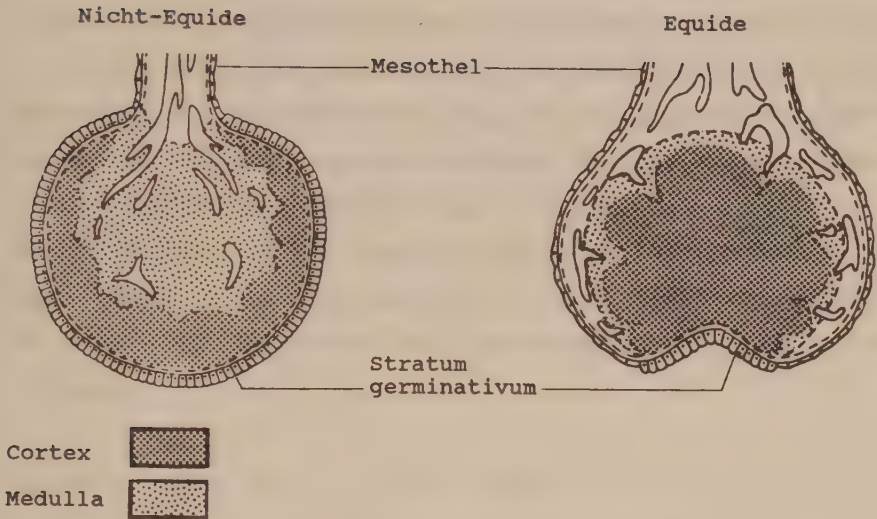


Abb.1: Schema über die Verteilung von Cortex und Medulla bei Nicht-Equiden und Equiden (nach GINTHER 1979).

Parenchym mit den primären, sekundären und tertiären Follikeln liegt zentral und ist umgeben von der vaskulären Zone. Das Stratum germinativum ist nur im Bereich der Ovulationsgrube vorhanden. Das Rinderovar besitzt dagegen eine Medulla mit Gefäßen und Nerven und einen Cortex mit den verschiedenen Follikelstadien. Das Stratum germinativum umgibt das gesamte Ovar bis auf den Ansatz des Mesovars.

Die Ovulation geschieht bei der Stute aufgrund des besonderen Aufbaus des Ovars immer in die Ovulationsgrube. Die sich daran anschließende Anbildung des Corpus luteums kann palpatorisch leicht festgestellt werden, da es sich in diesem Stadium als sehr weiches Funktionsgebilde anfühlt. Wegen der anatomischen Besonderheiten des Stutenovars ist zu einem späteren Zeitpunkt des Zyklusgeschehens die Lokalisation des Corpus luteums nicht mehr möglich. Die Angaben darüber, wie lange es palpiert werden kann, sind nicht zu vereinheitlichen (GINTHER 1979).

2.1.2.1. Die Follikel

Es wird vermutet, daß während des Zyklus der Stute das Wachstum der Follikel in zwei Wellenbewegungen abläuft (GINTHER 1979, IRVINE 1981). Diese fallen mit den beiden FSH-Anstiegen zusammen, die während des frühen und späten Diöstrus beobachtet werden. Die Follikel der ersten Welle atresieren wieder, während andere Follikel in einer zweiten Anbildungsphase heranwachsen. Zu Beginn des Östrus sind im Durchschnitt 3,5 Follikel mit einem Durchmesser von 20 - 25 mm vorhanden. Einer von diesen Follikeln kommt zur Ovulation, während die anderen atresieren.

Anhand von rektalen Untersuchungen werden von verschiedenen Untersuchern Aussagen über die Follikeldynamik gemacht.

GINTHER (1979) bestimmt den Durchmesser des jeweils größten Follikels von 24 Ponystuten und beobachtet eine durchschnittliche Zunahme von 3,5 mm/Tag während der 7 Tage vor der Ovulation. Er stellt fest, daß Follikel mit mehr als 20 mm Größe zur Ovulation hin zahlenmäßig abnehmen, um danach wieder sukzessive zuzunehmen. Die Anzahl der kleinen Follikel (10 - 20 mm) bleibt dagegen unverändert.

NISHIKAWA (1959) findet bei koreanischen Ponystuten eine Durchschnittsgröße des präovulatorischen Follikels von 2,7 cm zu Beginn der Rosse und einen Tag vor der Ovulation von 3,9 cm. Vom elften Tag bis zum letzten Tag vor der Ovulation beträgt das Wachstum 2,1 mm pro Tag (Tag -11 = 1,8 cm, Tag -1 = 3,9 cm).

Der Follikel, der zur Ovulation kommt, ist in den meisten Fällen auch derjenige, der zu Beginn der Rosse der größte ist (GINTHER 1979). Der präovulatorische Follikel benötigt von dem Tag an, an dem er der größte wird, bis zur Ovulation 2 - 11 Tage, im Schnitt 5,7 Tage. Im Vergleich dazu beträgt dieser Zeitraum bei Kühen 3 Tage (DUFOUR et al. 1972).

An Schlachtpräparaten von 50 Stuten finden WARSZAWSKY et al. (1972), daß die Zahl der Follikel von 20 - 30 mm und die Zahl derjenigen über 30 mm sowie der Durchmesser des größten Follikels

bei den Stuten größer ist, die ein Corpus albicans haben, als bei denen mit Corpus luteum oder Corpus hämorrhagicum. Diese Befunde sprechen für eine erhöhte follikuläre Aktivität während des Östrus.

2.1.2.2. Die Ovulation

Generell besteht die Ansicht, daß ein Anstieg des LH's der hormonelle Stimulus für eine Ovulation ist. Dieser fördert über einen Anstieg des cAMP's (GINTHER 1979) zusammen mit PGE_2 die Synthese eines Aktivators, der wiederum verantwortlich ist für die Umsetzung des Plasminogens in Plasmin in der Follikelflüssigkeit (KOLB 1984). Das Plasmin löst einen Teil der Bindungen zwischen den Granulosazellen auf und führt im Bereich der Theca zu einem Abbau von Bindegewebe. Dadurch wird die Wand des Follikels verdünnt und löst sich schließlich in einem bestimmten Bereich auf. Das Auslaufen des Follikels wird also nicht durch die Erhöhung des Innendruckes erzielt. Dafür spricht klinisch, daß viele Follikel zur Ovulation hin weicher werden (LEPEL 1976).

Mittels der rektalen Palpation kann in den meisten Fällen eine stattgefundene Ovulation festgestellt werden. LEPEL (1976) beschreibt dies als ein plötzliches Zusammenfallen des Follikels mit Bildung eines deutlich spürbaren Kraters während der Ovula-

tion. Nach Abschluß der Ovulation ist eine Fehlinterpretation möglich, da sich das gefüllte Corpus hämorrhagicum wie ein ovulationsreifer Follikel anfühlen kann (GINTHER 1979).

Andere Methoden bzw. Versuche die Ovulation festzustellen sind:

- Die Pelviskopie (HEINZE 1975). Dabei wurde beobachtet, daß die follikuläre Flüssigkeit innerhalb von 25 Sekunden ausläuft.
- Die Messung des Zervikalschleimhautwiderstandes (BROOK 1982). Bei 53 % der beobachteten Ovulationen konnte ein typischer Verlauf des Zervikalschleimhautwiderstandes festgestellt werden, was die Vorhersage der Ovulation ermöglichte.
- Die Ultraschalluntersuchung. Darauf wird in späteren Kapiteln eingegangen.
- Die Blut- bzw. Milchprogesteronwerte. Auch hierauf wird in späteren Kapiteln eingegangen.
- Die zytologischen und histologischen Befunde am Vaginalepithel (BREDE 1979) erlauben keine sichere Abgrenzung der einzelnen Zyklusphasen.
- Die Bestimmung des Protein- und Glucosegehaltes im Urin und in der vaginalen Flüssigkeit sowie deren pH-Wert (HOUSEHOLDER et al. 1974) lassen keine Diagnose des Zyklusstandes zu und ergeben auch keinen Hinweis auf eine Ovulation.

Trotz der unterschiedlichen Probiertechniken und einer nicht eindeutig festgelegten Definition des Begriffs "Rosse", sind sich die verschiedenen Autoren darüber einig, daß die Ovulation am Ende einer Rosse geschieht. 69 % der Ovulationen laufen an den

letzten beiden Tagen der Rosse ab, wobei der Tag der Ovulation der erste Tag ist, an dem der große ovulatorische Follikel palpatologisch feststellbar kollabiert ist. Es geschehen aber auch Ovulationen nach Ende der Rosse (14 %; GINTHER 1979). Eventuell handelt es sich dabei um Corpora lutea, die als Follikel angesprochen werden. Auf diese Fehlinterpretation weist GINTHER (1979) hin.

In der Literatur gibt es keine Hinweise, daß der Ovulationszeitpunkt in Relation zum Östrus von Alter, Rasse oder anderen inneren Faktoren bzw. von Jahreszeit, geographischer Lage, Fütterung oder anderen äußeren Faktoren beeinflußt wird (GINTHER 1979).

Als allgemeine Meinung gilt, daß eine Belegung innerhalb von 24 Stunden vor der Ovulation geschehen sollte und eine Belegung nach der Ovulation meist nicht erfolgreich ist (GINTHER 1979). McDONALD (1980) fand, daß vor der Ovulation 86 % der Inseminationen, während der Ovulation 74 % und 2 - 10 Stunden nach der Ovulation nur noch 30 % erfolgreich waren.

2.2. Die Ultraschalluntersuchung

2.2.1. Geschichte der Ultraschalldiagnostik

Die medizinische Ultraschalldiagnostik wurde aus den industriell verwendeten Technologien entwickelt (STEWART und MOORE 1984). Zunächst diente Ultraschall der Therapie. Die ersten Publikationen über diagnostische Untersuchungen erschienen in den 50er Jahren. Jan DONALD, ein Professor der Gynäkologie aus Glasgow, ist einer der Pioniere auf diesem Gebiet. Er diagnostizierte mit Hilfe des Ultraschalls Tumoren im Abdomen von Frauen (DONALD 1977). Bis zum heutigen Zeitpunkt hat sich daraus in der Humanmedizin ein generell anerkanntes Untersuchungsverfahren entwickelt.

Auch in der Tiermedizin findet die Ultraschalluntersuchung eine immer größere Verbreitung. Über die Anwendung bei Stuten zur Trächtigkeitsfeststellung und Untersuchung des fetalen Lebens berichten FRASER et al. (1973). MITCHELL (1973) verwendet die Dopplermethode um den fetalen Kreislauf bei der Stute und beim Rind darzustellen.

Der Durchbruch der Ultraschalldiagnostik bei Pferden gelang 1980, als PALMER und DRIANCOURT die Trächtigkeitskontrolle bei Stuten ab Tag 14 post ovulationem beschrieben. Danach konzentrierte man sich vor allem auf weitere gynäkologische Fragestellungen (CHEVALIER und PALMER 1982, SIMPSON et al. 1982, GINTHER 1983a, 1983b, MERKT et al. 1983, GINTHER und PIERSON 1984a, 1984b, 1984c, KÄHN

und LEIDL 1984a, 1984b, 1985, LEIDL und KÄHN 1984, PIERSON und GINTHER 1985a, 1985b). Bei der Trächtigkeitsuntersuchung von Stuten hat das Ultraschallverfahren inzwischen einen festen Platz eingenommen.

2.2.2. Allgemeines

2.2.2.1. Physikalische Prinzipien

Als Ultraschall bezeichnet man Schallwellen mit einer Frequenz von 1,0 bis 10,0 Megahertz (MHz). Sie liegen oberhalb der für das menschliche Ohr hörbaren Grenze (obere Hörgrenze 20 000 Hertz).

Ultraschallwellen werden von Kristallen erzeugt, die sich durch den sogenannten piezoelektrischen Effekt auszeichnen (piezo: griech. = Druck). Diese Kristalle setzen elektrische Impulse in Form von Druck in Schallwellen um. Umgekehrt können sie Schallwellen empfangen und in elektrische Impulse überführen, die z.B. auf einem Oszillographenbildschirm sichtbar gemacht werden. Die Kristalle dienen also abwechselnd als Sender und Empfänger.

Die ausgesendeten Schallwellen durchdringen die einzelnen Gewebeschichten und werden von diesen reflektiert, absorbiert oder gestreut. Das hängt erstens vom Einfallswinkel der Schallwellen und

zweitens von der charakteristischen Größe eines Gewebes ab, der akustischen Impedanz¹ (RANTANEN und EWING 1981). Dies ist eine Maßzahl, die sich als das Produkt aus der Geschwindigkeit des Schalles und der Dichte des Gewebes ergibt. Die Anzahl der reflektierten Wellen ist direkt proportional der Differenz der akustischen Impedanzen zweier aneinandergrenzender Gewebeschichten. Luft hat eine sehr geringe akustische Impedanz, so daß an der Grenzschicht Gewebe - Luft eine meist totale Reflexion der Wellen eintritt. Zwei aneinandergrenzende Gewebearten mit sehr ähnlicher akustischer Impedanz ergeben eine sehr geringe oder keine Reflexion der Schallwellen und damit keine sichtbaren Grenzen auf dem Ultraschallbild.

Je nach Darstellung der Schallwellen werden 4 Methoden der Ultraschalltechnik unterschieden (RANTANEN und EWING 1981).

Die A-mode-Technik (= amplitude mode) ist eine 1-dimensionale Wiedergabe der reflektierten Schallwellenamplitude und ihrer Eindringtiefe.

Bei der B-mode-Technik (= brightness mode) erfolgt eine 2-dimensionale Wiedergabe. Dabei wird die Intensität des Punktes über

¹ akustische Impedanz: Z

$$Z = v \times p$$

$$v = \text{Geschwindigkeit des Schalls } [\text{cm} \times \text{s}^{-1}]$$

$$p = \text{Dichte des Gewebes } [\text{g} \times \text{cm}^{-3}]$$

$$\text{Weichteilgewebe : } Z = 1,63 \times 10^5 \text{ g} \times \text{cm}^{-2} \times \text{s}^{-1}$$

$$\text{Knochen : } Z = 7,8 \times 10^5 \text{ g} \times \text{cm}^{-2} \times \text{s}^{-1}$$

$$\text{Luft : } Z = 0,0004 \times 10^5 \text{ g} \times \text{cm}^{-2} \times \text{s}^{-1}$$

seinen Graustufenwert dargestellt. Durch Bewegen der Sonde über dem zu untersuchenden Organ wird dieses in Querschnitten aufgenommen. Je nach Stellung der Sonde zu den entsprechenden Organen ergeben sich die in Abb.2 dargestellten Bilder.

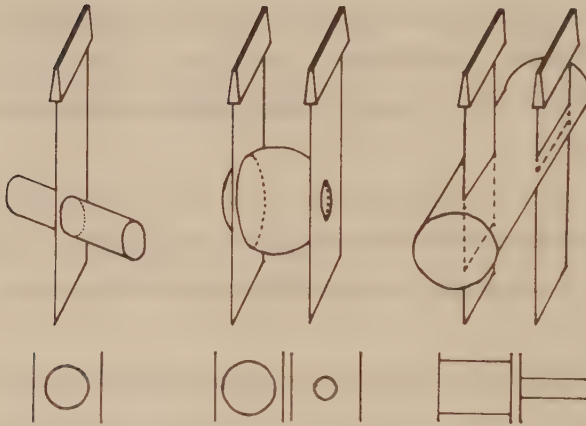


Abb.2: Schematische Darstellung des Ultraschallbildes bei einer Beschallung verschiedener Körper (nach LEIDL und KÄHN 1984). Von links nach rechts das Schema der Schnittebenen, die sich bei einer Beschallung eines Zylinders in der Quersachse, einer Kugel und eines Zylinders in der Längsachse ergeben. Die untere Bildreihe zeigt das auf den Bildschirm projizierte Bild der Schnittebenen.

Die M-mode-Technik (= motion mode) erfäßt 1-dimensional den Abstand der Punkte von der Sonde. Es wird vor allem bei sich bewegenden Organen angewendet (z.B. Echokardiographie).

Das früher häufiger verwendete Dopplerverfahren beruht darauf, daß Schallwellen, die auf ein sich bewegendes Objekt treffen, mit einer leicht veränderten Frequenz reflektiert werden (MITCHELL 1973). Die Frequenzänderung kann in ein akustisches Signal umgewandelt werden. Dieses Prinzip wird zur Darstellung des schlagenden Herzens oder eines großen pulsierenden Gefäßes verwendet.

Bei Linearskannern sind mehrere einzelne Kristalle in einer Reihe in der Längsrichtung der Sonde angeordnet. Es wird ein rechtwinkliges Bild erzeugt. Gegenüber dem Sektorskanner hat der Linearskanner eine kleinere Gesamtbilddarstellung.

Im Sektorskanner rotiert ein Kristall um eine Achse. Durch Ausblenden der Schallwellen auf einen Bereich von $50 - 60^\circ$ entsteht ein kegelförmiges Bild (TORBECK 1986).

2.2.2.2. Interpretation von Ultraschallbildern eines B-mode-Gerätes

Das Ultraschallbild ergibt sich durch die Impedanzunterschiede der einzelnen Gewebearten. Echogebende Gewebe stellen sich als weiße Anteile dar, nicht-echogebende als schwarze. Je nach Gerätetyp werden verschiedene Anzahlen von Graustufen als Übergang zwischen diesen beiden Stufen wiedergegeben.

Die unterschiedlichen Gewebearten sind an ihren echogebenden Strukturen zu erkennen (PARK et al. 1981). Luft und Knochengewebe sind stark echogebend. Auf der schallabgewandten Seite entsteht ein Schatten, der eine Beurteilung der dahinterliegenden Strukturen nicht zuläßt. Flüssigkeitsgefüllte Strukturen werden von den Schallwellen ohne Reflexionen durchdrungen. Fettgewebe ist mehr echogebend als Gewebe mit wasserähnlicher Dichte. Parenchymalorgane geben durch die unterschiedlichen Verhältnisse von Zellgehalt und Stroma charakteristische Echobilder.

An den Ovarien steht die Darstellung der Follikel im Vordergrund (KÄHN und LEIDL 1987). Da sie flüssigkeitsgefüllt sind, erscheinen sie als intensiv schwarze Flächen. Ihre Form reicht von rund über oval bis hin zu unregelmäßig.

Die Follikelwand stellt sich als echointensiver, dünner Saum dar, besonders intensiv bei senkrechtem Schallwelleneinfall. An den Stellen, an denen die Wellen tangential auf die Follikelwand treffen, werden sie nur gebeugt und gelangen nicht zum Schallkopf zurück. Diese Bereiche zeigen keine Follikelwand, sind aber durch Schallschatten markiert, die hier entspringen und von dort in die Tiefe ziehen (KÄHN und LEIDL 1987).

Mit Ultraschall lassen sich auch Corpora lutea an den Ovarien darstellen. GINTHER und PIERSON (1984b) beobachteten, daß bereits 5 Minuten nach Kollabieren des Follikels in seinem Zentrum ein

helles Areal sichtbar wird. Diese echointensive Zone ist bei sich neu bildenden Gelbkörpern noch einige Tage nach der Ovulation sichtbar (KÄHN und LEIDL 1987).

2.2.2.3. Unbedenklichkeit des Ultraschalls

Als zusammenfassende Beurteilung der Risiken des Ultraschalls soll hier die Unbedenklichkeitserklärung des "EUROPEAN COMMITTEE FOR ULTRASONIC RADIATION SAFETY" (1985) angeführt werden:

"Ultraschall wird für diagnostische Zwecke in der Geburtshilfe seit etwa 25 Jahren in großem Umfang klinisch angewandt. Viele mehr oder weniger umfangreiche und detailreiche Studien von unterschiedlichem Ansatz sind seitdem mit der Absicht durchgeführt worden, etwaige nachteilige Wirkungen aufzudecken. Bis zur Veröffentlichung dieser Erklärung hat keine dieser Studien einen Anhaltspunkt dafür geliefert, daß der Ultraschall bei den gegenwärtig angewendeten Intensitäten irgendwelche nachteiligen Wirkungen auf den Feten oder auf die Mutter ausübt.

In Anbetracht des gegenwärtigen Mangels an wirkungsvoll geplanten, kontrollierten prospektiven epidemiologischen Langzeitstudien muß auf die Ergebnisse von In-vitro- und In-vivo-Studien zurückgegriffen werden.

Verschiedene Wirkungen von potentieller klinischer Signifikanz sind bei einer Vielfalt biologischer Systeme beobachtet worden, die gepulstem und kontinuierlichem diagnostischen Ultraschall ausgesetzt wurden. Diejenigen Systeme, die für eine weitere Untersuchung ausgewählt wurden, erbrachten entweder keine Bestätigung oder einander widersprechende Ergebnisse.

Das Komitee schließt sich der klinischen Unbedenklichkeitserklärung an, die von der AIUM (= American Institute of Ultrasound in Medicine) im Oktober 1983 abgegeben wurde, betont jedoch die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen der Biowirkungen unter physikalischen, biologischen und klinischen Aspekten. Die routinemäßig durchgeführte Ultraschalluntersuchung einer jeden Frau während der Schwangerschaft ist aufgrund der bis jetzt vorliegenden Ergebnisse biologischer Studien nicht kontraindiziert und sollte dem Ermessen des Arztes überlassen bleiben."

Diese Erklärung der AIUM von 1983 (ZISKIN 1986) sagt aus, daß bisher von keinen biologischen Effekten bei den Patienten oder dem klinischen Personal berichtet wurde. Auch wenn die Möglichkeit besteht, daß in Zukunft biologische Effekte nachweisbar werden könnten, überwiegt der momentane Nutzen des diagnostischen Ultraschalls das eventuelle Risiko.

In der Tiermedizin existieren keine eigenen internationalen oder nationalen Komitees, die Richtlinien dieser Art herausgeben. Erfahrungen und Ergebnisse aus tiermedizinischen Untersuchungen werden aber in die oben genannten Erklärungen miteinbezogen.

2.2.3. Anwendung des Ultraschalls bei der Ovardiagnostik unter speziellen Aspekten der Ovulation

PALMER und DRIANCOURT (1980) haben in ihren Experimenten den Zugang per rectum als den für die Ultraschalldiagnostik am Ovar der Stute geeignetsten Weg beschrieben. Sie finden, daß Größenmessungen mittels Ultraschall wesentlich besser mit den post mortem Bestimmungen übereinstimmen als durch rektale Palpation erhobene Werte. Bei der Ultraschalluntersuchung korreliert die Bestimmung des größten Follikels mit $r = 0,91$ sehr gut mit der post mortem Bestimmung. Die Durchmesser des zweit- und drittgrößten Follikels weichen dagegen in beiden Verfahren stark voneinander ab.

Untersuchungen von PIERSON und GINTHER (1985b) über den präovulatorischen Follikel zeigen, daß dieser in 82 % der Fälle am sechsten Tag vor der Ovulation oder bereits schon früher der größte Follikel wird. Die Wachstumsrate der Follikel ist linear und beträgt täglich 2,7 mm. Nach PALMER und DRIANCOURT (1980) beendet der Follikel sein Wachstum vor der Ovulation. Der zweitgrößte Follikel wächst während dieser Phase nicht. Verhältnismäßig häufig nimmt der Follikel kurz vor der Ovulation eine unregelmäßig runde bis birnenförmige Gestalt an (KÄHN und LEIDL 1987). Diese Formveränderung fällt mit dem rektal palpierbaren Spannungsverlust des Follikels und der deutlich werdenden Fluktuation zusammen.

Dennoch kann nach PIERSON und GINTHER (1985b) bei einer einmaligen Untersuchung pro Tag kein Indiz gefunden werden, mit Ultraschall den Zeitpunkt der Ovulation generell vorherzubestimmen.

2.3. Progesteronbestimmungen

Die Progesteronkonzentration im Blut gilt als objektiver Maßstab für die zyklische Aktivität der Ovarien. SHORT (1959) berichtet als erster über den Progesterongehalt im Blut von Stuten während des Zyklus und während der Trächtigkeit. Er verwendet dabei eine Ultraviolett-Absorptions-Technik.

Es folgen kompetitive Protein-Bindungs-Tests mit deren Hilfe SMITH et al. (1970), PLOTKA et al. (1972), STABENFELDT et al. (1972), SHARP und BLACK (1973) und ANAND et al. (1973) den Blutprogesterongehalt während des Zyklus und HOLTAN et al. (1973) sowie ALLEN und HADLEY (1974) den Blutprogesterongehalt während der Trächtigkeit bestimmen.

Die ersten Berichte über einen Radioimmunoassay (= RIA) stammen von SQUIRES et al. (1974), PLOTKA et al. (1975) und PALMER und JOUSSET (1975). Seitdem hat der RIA den kompetitiven Protein-Bindungs-Test verdrängt.

Die neueste Bestimmungsmethode ist der Enzymimmunoassay (= EIA). Die Vorteile des EIA's im Vergleich zum RIA liegen auf der Hand:

- Der geringe Analyseaufwand führt zu niedrigen Kosten und schnell verfügbaren Meßergebnissen.
- Es entstehen keine Probleme durch Umgang und Beseitigung radioaktiver Stoffe.

Die Angaben über den Blutprogesterongehalt sind in Abhängigkeit von der Bestimmungsmethode zu betrachten. Beim kompetitiven Protein-Bindungs-Test und beim RIA liegen die Progesteronwerte vor der Ovulation generell unter einem Grenzwert von 1 ng/ml Blutplasma. In ihren Absolutwerten nach der Ovulation unterscheiden sie sich aber (SMITH et al. 1970, PLOTKA et al. 1972, STABENFELDT et al. 1972, HOLTAN et al. 1973, SQUIRES et al. 1974 und LOTZMER-JENTGES et al. 1979).

Sechs Tage nach der Ovulation erreicht der Progesteronspiegel ein Maximum (STABENFELDT et al. 1972, STABENFELDT und HUGHES 1977), um ab Tag 15 des Zyklus unter 1 ng/ml Blutplasma zu fallen (PLOTKA et al. 1972, LOTZMER-JENTGES et al. 1979).

Der Progesterongehalt kann auch in der Milch bestimmt werden. BAILES und HOLDSWORTH (1978), GUNTHER et al. (1978), HUNT et al. (1978) sowie STOLLA und LEIDL (1979) waren die ersten, die vom Nachweis in der Stutenmilch berichteten. Seitdem sind nur einige wenige Untersuchungen über die Anwendungsmöglichkeit sowie die Vor- und Nachteile dieser Methode veröffentlicht worden (GUNTHER

et al. 1980, STOLLA et al. 1980, ENBERGS und GENTZ-RICHTER 1982, RAUSCHELBACH und ENBERGS 1982, STOLLA und BADER 1984). Letztere berichten, daß ein enger Korrelationskoeffizient von $r = 0,89$ zwischen Milch- und Blutplasmakonzentrationen besteht.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material

3.1.1. Stuten

Die Untersuchungen wurden an 46 Traber- und 15 Warmblutstuten durchgeführt (Tab.1). Es handelte sich dabei um 9 Maidenstuten, 25 Stuten, die seit einem Jahr güst waren und 27 Stuten mit Fohlen bei Fuß. Das Alter der Stuten betrug im Durchschnitt 11,4 Jahre. Die Zyklusdauer lag bei $22,3 \pm 2,7$ Tagen und die Rosse-
dauer bei $6,7 \pm 4,3$ Tagen.

Tab.1: Angaben über die untersuchten Stuten

Status	Rasse	Alter in Jahren ($\bar{x}$)	Rossedauer in Tagen ($\bar{x} \pm s$)	Zykluslänge in Tagen ($\bar{x} \pm s$)
Maiden- stuten (n=9)	Traber (n=6)	6,7	$7,6 \pm 3,2$	$22,9 \pm 2,7$
	Warmblut (n=3)	4,3	$6,5 \pm 2,1$	$24,5 \pm 0,9$
Güste Stuten (n=25)	Traber (n=18)	13,9	$6,3 \pm 3,0$	$21,5 \pm 2,3$
	Warmblut (n=7)	11,7	$7,7 \pm 5,0$	$23,4 \pm 4,2$
Stuten mit Fohlen (n=27)	Traber (n=22)	11,8	$5,0 \pm 2,3$	$22,4 \pm 2,7$
	Warmblut (n=5)	10,2	$8,2 \pm 3,0$	$24,0 \pm 1,3$
Total		11,4	$6,7 \pm 4,3$	$22,3 \pm 2,7$

Die Untersuchungen wurden von März bis Juli 1986 durchgeführt. In diesem Zeitraum wurden 101 Ovulationen beobachtet. Die Stuten wurden im 12stündigen Rhythmus rektal manuell und mittels Ultraschall untersucht und täglich einmal mit einem Hengst auf Rosseanzeichen probiert.

3.1.2. Blut- und Milchproben

Bei allen Stuten, die für eine Blut- und Milchprobenentnahme zur Verfügung standen, erfolgte die Gewinnung dieser Proben zwischen 17.00 und 19.00 Uhr. Aus den Blutproben wurde Serum und Plasma gewonnen. Zur Bestimmung des Progesteronwertes vor der Ovulation wurde, soweit es möglich war, mindestens an einem Tag eine Probe entnommen. Danach folgten an den Tagen 1, 2, 3, 5, 7 und 11 weitere Probenentnahmen (Tag 1 = Tag der Ovulation, anhand der Ultraschalluntersuchung festgestellt). Nach dem Zentrifugieren der Blutproben wurden die daraus gewonnen Serum- und Plasmaproben sowie die unbehandelten Milchproben bei -18°C bis zur Hormonbestimmung gelagert.

3.1.3. Geräte für die Ultraschalluntersuchungen

Für die Ultraschalluntersuchung wurde der Linearskanner Aloka SSD-210 DX II mit einem Schallkopf von 5 MHz verwendet. Die Bilder des Ultraschallbildschirms wurden mittels einer Polaroidkamera und den Filmen Polaroid Typ 611 oder einer Kleinbildkamera mit Adapter und den Filmen Ilford FP 4 aufgenommen.

3.1.4. Gerät für die Progesteronbestimmungen

Zur Messung der Extinktionen bei der Bestimmung der Progesteronkonzentrationen mit Hilfe des Enzymimmunoassays wurde ein Eppendorf Photometer Typ 1101 M verwendet.

3.2. Methodik

3.2.1. Rektale Untersuchung

Die rektalen Untersuchungen wurden alle 12 Stunden durchgeführt und protokolliert. Es wurden die Größe der Ovarien sowie Größe und Konsistenz von palperten Funktionsgebilden festgestellt (Tab.2).

Tab.2: Einteilung der Konsistenz der palperten Follikel

-
- | |
|---------------------------|
| 1. hart |
| 2. prall |
| 3. prall bis weich |
| 4. weich |
| 5. weich bis fluktuierend |
| 6. fluktuierend |
-

3.2.2. Ultraschalluntersuchung

Die Ultraschalluntersuchung schloß sich der rektalen Untersuchung an. Dazu wurde die von einer Plastikhülle geschützte Sonde in das von Faeces geleerte Rektum eingeführt. An beiden Ovarien wurden jeweils von den beiden größten Blasen der maximale und der dazu senkrecht stehende Durchmesser und von den restlichen Blasen das arithmetische Mittel dieser Durchmesser bestimmt. Nur Blasen mit

einem Minstdurchmesser von 3 mm wurden in die Untersuchung mitbezogen. Es wurde versucht, die beiden größten Follikel eines Eierstockes individuell zu erkennen. Das gleiche galt für die wenigen Fälle, in denen mehr als zwei große Blasen vorkamen. Die Identifikation der Blasen erfolgte anhand ihrer Form und Größe sowie ihrer Lage im Ovar bzw. zu den umgebenden Blasen. Zur Größenmessung wurde das Ultraschallbild mit einer "freeze"-Einrichtung in ein Standbild überführt. Eine integrierte Meßvorrichtung in Form von beweglichen Kreuzen erlaubte die Vermessung der Blasen. Am Bildrand konnte dann die Größe direkt in Zentimetern abgelesen werden.

Alle Blasen wurden in der oben beschriebenen Art und Weise vermessen und nach ihrer Größe sortiert. Kamen viele - ca. 10 bis 15 - Blasen an einem Ovar vor, mußte in manchen Fällen auf die "freeze"-Einrichtung verzichtet werden. Die individuelle Unterscheidung der Blasen war dann nur im fortlaufenden Untersuchungsgang möglich. Beim Hinwegfahren mit dem Transducer über das Ovar wurde die Größe dieser Blasen geschätzt. Eine Kalibrierung am Bildrand erleichterte dies.

Bei den präovulatorischen Follikeln wurde die Dicke der Wand gemessen. Da die Follikelwand meist nicht in ihrer Gesamtheit zu erkennen war, wurde der prozentuale Anteil der sichtbaren Follikelwand geschätzt. Veränderungen der Echogenität der Follikelflüssigkeit wurden erfaßt, indem echogebende Strukturen nach einem Schema eingeteilt wurden (Tab.3).

Tab.3: Einteilung der echogebenden Strukturen in der Follikelhöhle

-
- | | |
|---|---------------------------------|
| 1 | = keine echogebenden Strukturen |
| 2 | = Echopunkte |
| 3 | = Echoschlieren |
-

Die Gestalt der präovulatorischen Follikel wurde ebenfalls klassifiziert (Tab.4). Bei einigen Follikeln stellte sich im Ultraschallbild im transducernahen Bereich die Begrenzung der Follikelhöhle als Gerade dar. Um auch in diesen Fällen die Gestalt der Follikel in die unten angegebene Einteilung einreihen zu können, wurden sie nach den transducerfernen Anteilen beurteilt.

Tab.4: Einteilung der Gestalt der präovulatorischen Follikel

-
- | | |
|---|----------------|
| 1 | = rund |
| 2 | = oval |
| 3 | = unregelmäßig |
-

3.2.3. Bestimmungsmethoden des Progesterons

3.2.3.1. Enzymimmunoassay

Die Serumproben wurden mit dem Enzygnost^R Serum Progesteron Test-Kit-Vet der Firma Hoechst bestimmt. Dieser Test basiert auf dem Prinzip des kompetitiven Enzymimmunoassays (kompetitiver ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay).

Bei diesem Test konkurrieren das Progesteron der Serumprobe und das enzymkonjugierte Hormon um eine definierte Anzahl freier Bindungsstellen des auf den Testplatten fixierten monoklonalen Progesteron-Antikörpers. Nach Einstellen des Gleichgewichtes wird der Anteil des gebundenen markierten Progesterons bestimmt. Je höher dieser Anteil ist, desto weniger nicht markiertes, d.h. endogenes, Progesteron liegt in der zu untersuchenden Probe vor. Die Menge an gebundenem, enzymkonjugiertem Progesteron wird anhand einer Farbentwicklung gemessen. Diese Farbreaktion wird durch eine im Testsystem enthaltene Verstärkerlösung beschleunigt und empfindlicher gemacht. Dadurch wird im Vergleich mit den mitgelieferten Standards mit bekanntem Progesterongehalt eine photometrisch quantitative Auswertung möglich.

3.2.3.2. Radioimmunoassay

Die Plasma- und Milchproben wurden mittels eines Radioimmunoassays nach den von HOFFMANN et al. (1973) bzw. HOFFMANN und HAMBURGER (1973) für die Anwendung beim Rind entwickelten Verfahren bestimmt.

3.2.4. Statistische Berechnungen

Die Daten wurden mittels EDV mit dem statistischen Programmpaket SPSSX berechnet. Es wurden Chi-Quadrat-Test, t-Test, Scheffé-Test und Varianzanalyse angewendet.

3.3. Ergebnisse der rektalen manuellen und Ultraschalluntersuchungen an den Ovarien

3.3.1. Definition der Ovulation

Die Ovulation geschieht innerhalb eines gewissen Zeitraums, der nicht näher bekannt ist. Drei Bilder, im Abstand von 3 Stunden aufgenommen, sollen dies verdeutlichen.

Ein Follikel, der innerhalb von 12 Stunden ovulieren wird, kann eine unregelmäßige Form zeigen (Abb.3). Dies läßt auf einen Verlust des Innendrucks schließen. In diesem Stadium ist die Follikelwand noch klar zu erkennen. In der Follikelhöhle sind zur Follikelwand hin echogebende Strukturen in Form von Echopunkten und Echohaufen zu sehen.

Im weiteren Verlauf kann nicht mehr eindeutig von einem Follikel gesprochen werden (Abb.4). Er verkleinert sich wesentlich. Die Follikelwand ist nicht mehr zu erkennen. Das ganze Gebilde ist von einer unregelmäßig dicken, echogebenden Schicht umgeben. Die sonst nicht echogebende Follikelflüssigkeit ist von gleichmäßig verteilten Echopunkten durchsetzt. Ob sich zu diesem Zeitpunkt die Eizelle noch in der Follikelhöhle oder bereits im Eileiter befindet, ist anhand des Ultraschallbildes nicht zu sagen.

Eine gewisse Zeit später weist die Ovulationsstelle nur noch andeutungsweise nicht echogebende Zonen auf (Abb.5). An der Stelle des ehemaligen Follikels ist eine echogebende Struktur zu sehen, die sich nur in manchen Bereichen klar vom umgebenden Gewebe abgrenzt. Es handelt sich hier um ein junges Corpus luteum, d.h. die Ovulation ist abgeschlossen. Eine Kontrollaufnahme 12 Stunden nach der ersten Untersuchung zeigt die Struktur eines Corpus hämorrhagicums in diesem Bereich (Abb.6). Dieses ist durch die beiden unterschiedlichen Zonen charakterisiert - dem fast echolosen Blutkoagulum im Zentrum des Corpus hämorrhagicum und dem echointensiven Luteingewebe, das von einer Grenzlinie umgeben ist.



Abb.3



Abb.4



Abb.5



Abb.6

Abb.3: Follikel ca. 12 Stunden vor der Ovulation. Er zeigt eine unregelmäßige Form.

Abb.4: Derselbe Follikel drei Stunden später. Anstatt einer Follikelhöhle umgibt eine unregelmäßig dicke echogebende Schicht die Follikelhöhle.

Abb.5: Wiederum drei Stunden später ist an dieser Stelle des Ovars ein echogebendes Gewebe zu erkennen, das sich in manchen Bereichen klar von der Umgebung abgrenzt.

Abb.6: 12 Stunden nach der ersten Aufnahme ist dieser Bereich im Zentrum fast echolos (interpretiert als Corpus hämorrhagicum) und umgeben von einem echointensiven Abschnitt (Luteingewebe).

Anhand dieser vier Aufnahmen wird die Definition der Ovulation erläutert, die den Untersuchungen zugrunde gelegt wird. Der Tag, an dem Strukturen wie in Abb.5 und 6 gefunden werden, wird als Tag der Ovulation (= Tag 1) gewertet. Wenn kein abgrenzbares Corpus luteum gefunden werden kann, wird die Ovulation allein durch das Fehlen des erwarteten großen Follikels registriert.

3.3.2. Größenentwicklung des präovulatorischen Follikels

Vor Beginn und während des gesamten Östrus war auf dem Ovar, auf dem später eine Ovulation eintrat, ein Follikel vorhanden, der größer war als die anderen (Abb.7). In der Regel war dieser ca. 192 Stunden vor der Ovulation (maximal 228 Stunden, minimal 60 Stunden) der größte Follikel, der dann tatsächlich ovulierte.

Diese präovulatorischen Follikel waren 192 Stunden vor der Ovulation $25,0 \pm 5,6$ mm groß. Durchwegs vergrößerten sie sich noch $5,9 \pm 2,1$ Tage, bis sie zur Ovulation kamen und erreichten 36 Stunden vor der Ovulation einen Durchmesser von $41,5 \pm 5,5$ mm. Es folgte ein Wachstumsstillstand 24 Stunden vor der Ovulation und 12 Stunden davor eine Abnahme der Größe um durchschnittlich 0,8 mm. Diese Abnahme war aber nicht signifikant ($P > 0,05$). Der kleinste Follikel, der zur Ovulation kam, hatte einen Durchmesser von 26,5 mm, der größte einen von 51,5 mm.

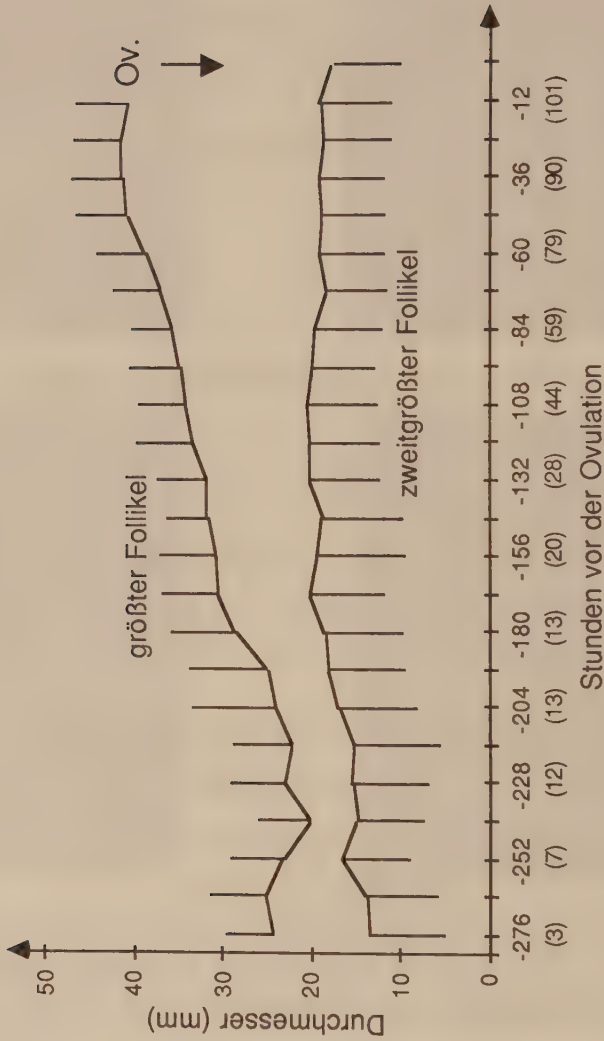


Abb.7: Vergleich der Größenentwicklung des größten und des zweitgrößten Follikels bis zur Ovulation anhand des arithmetischen Mittels des maximalen und des senkrecht dazu stehenden Durchmessers der Follikel (x). Werte in Klammern = Anzahl der untersuchten Follikel.

Der Durchmesser nahm von diesem Untersuchungstermin 192 Stunden bis 36 Stunden vor der Ovulation um 1,25 mm pro 12 Stunden zu.

Im gesamten Untersuchungsmaterial wurden 12 Stunden vor der Ovulation nur in 2 Fällen Follikel gefunden, die mit einem Durchmesser von weniger als 30 mm zur Ovulation kamen. 90 % der Follikel waren zu diesem Zeitpunkt größer als 35 mm.

Zu Beginn der Rosse betrug die Größe der Follikel, die zur Ovulation kamen $33,0 \pm 7,8$ mm und 12 Stunden vor der Ovulation waren es $40,5 \pm 8,1$ mm. Der zweitgrößte Follikel des Ovars, auf dem die Ovulation eintrat, hatte mit Beginn der Rosse eine Größe von $18,2 \pm 6,5$ mm und 12 Stunden vor der Ovulation $17,2 \pm 6,4$ mm. Bei diesen Werten wurden Doppelovulationen nicht berücksichtigt.

Beim Anlaufen der Paarungssaison, also in den Monaten März und April, waren in einigen Fällen große Follikel zu palpieren, die aber nicht zur Ovulation kamen. Bei diesen Stuten bildete sich auf dem ipsi- oder kontralateralen Ovar ein präovulatorischer Follikel heran, während der andere Follikel in diesem Zeitraum in seiner Größe abnahm.

Zu späteren Zeitpunkten der Decksaison wurden zwei Fälle beobachtet, bei denen sich ein Follikel herangebildet hatte, der nicht zur Ovulation kam. Diese beiden Follikel erreichten ein Wachstumsplateau. Danach bildeten sich bei ihnen innerhalb der Follikelhöhle wabenförmige, echogebende Strukturen (Abb.8 und 9). Im

Verlauf der folgenden 10 Tage nahmen beide Gebilde in ihren Durchmessern ab, bis sie nicht mehr auf dem Ultraschallbild zu erkennen waren.



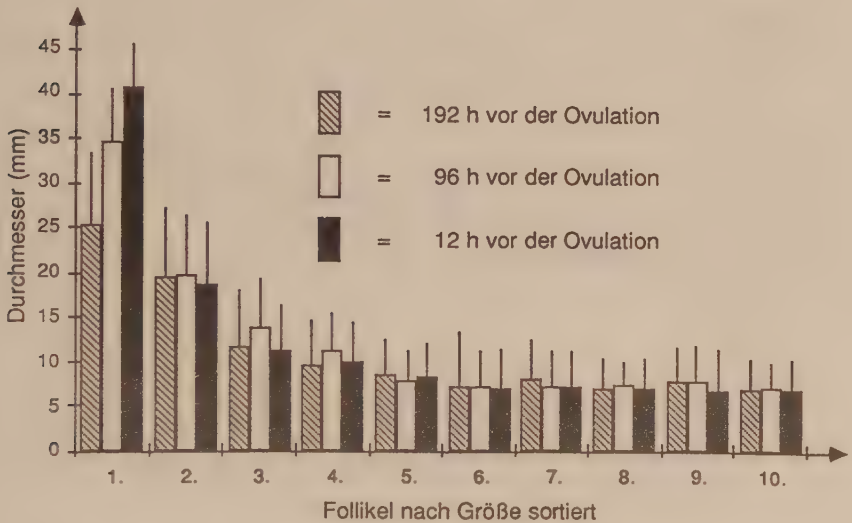
Abb. 8



Abb. 9

Abb. 8 und 9: Beide Bilder zeigen den gleichen Follikel. In Abb. 8 hat er die Größe eines ovulationsreifen Follikels erreicht. Er kommt aber nicht zur Ovulation, sondern bildet die in Abb. 9 zu sehenden, echogebenden, wabenförmigen Strukturen im Inneren der Follikelhöhle aus.

Wurde die Größe der Follikel zu verschiedenen Zeitpunkten des Zyklusstandes miteinander verglichen, ergab sich nur für den ersten Follikel ein signifikanter Größenunterschied zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten (Abb.10). Die anderen Follikel unterschieden sich in Abhängigkeit vom Zyklusstand nicht signifikant in ihrer Größe.



Anzahl der Follikel an den einzelnen Untersuchungsterminen

Follikel nach Größe sortiert	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
192 h a.o.	13	12	12	11	9	6	4	3	2	1
96 h a.o.	53	51	47	38	31	24	12	8	5	3
12 h a.o.	101	99	90	67	48	30	18	12	9	5

Abb.10: Arithmetisches Mittel des maximalen und des senkrecht dazu stehenden Durchmessers der nach ihrer Größe sortierten Follikel des Ovars, auf dem die Ovulation eintritt, in Abhängigkeit vom Untersuchungszeitpunkt ($\bar{x} \pm s$).

Ein Vergleich der palpatorischen Größenschätzung aller präovulatorischen Follikel mit der Ultraschallmessung ergab einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,84$ ($n = 818$). Dabei wurde die Größe der Follikel während der meisten Untersuchungstermine palpatorisch größer geschätzt (Abb.11).

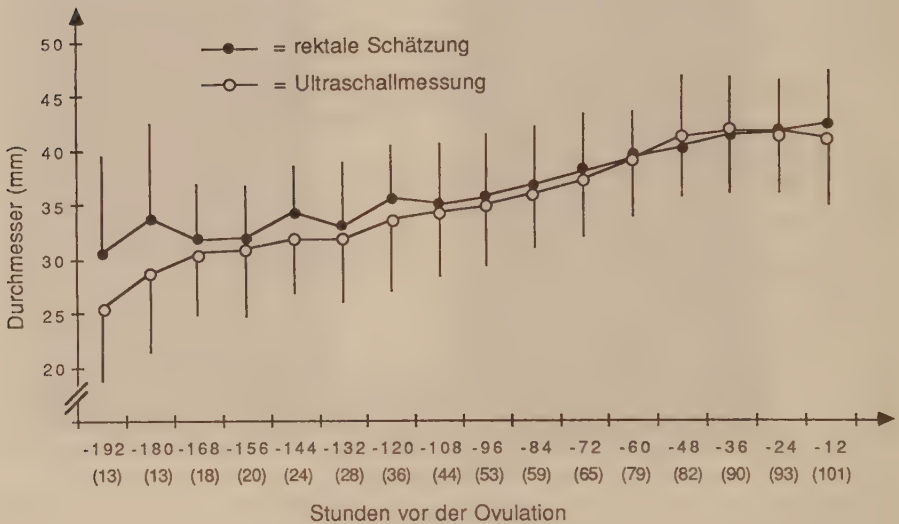


Abb.11: Vergleich der palpatorisch geschätzten Größe der präovulatorischen Follikel mit der im Ultraschallbild gemessenen Größe ($\bar{x} \pm s$). Werte in Klammern = Anzahl der untersuchten präovulatorischen Follikel.

3.3.3. Anzahl der Follikel

Es stellte sich die Frage, ob eine nahende Ovulation an Veränderungen der Follikelanzahl zu erkennen war. In Abhängigkeit vom Untersuchungstermin wurde die Anzahl der im Ultraschallbild festgestellten Follikel auf dem Ovar berechnet, an dem die Ovulation eintrat (Abb.12). Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ergebnissen der einzelnen Untersuchungstermine festgestellt werden ($P > 0,05$).

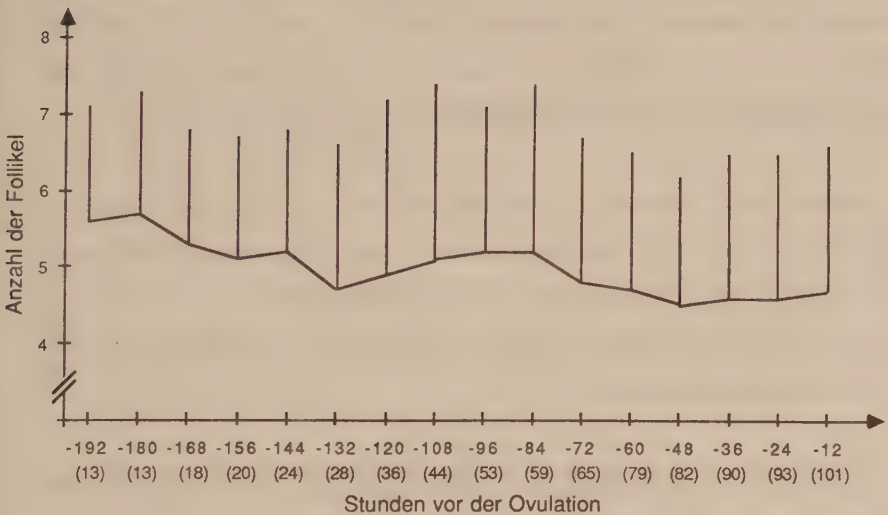


Abb.12: Anzahl der Follikel auf dem Ovar, auf dem die Ovulation eintreten wird, in Abhängigkeit vom Untersuchungszeitpunkt ($\bar{x} \pm s$). Der Unterschied der Ergebnisse an den einzelnen Untersuchungsterminen ist nicht signifikant ($P > 0,05$). Werte in Klammern = Anzahl der untersuchten Ovarien.

3.3.4. Änderungen der Follikelwand, der Echogenität der Follikelflüssigkeit und der Gestalt der präovulatorischen Follikel

Die Erkennbarkeit der Follikelwand im Ultraschallbild ist von der Richtung der einfallenden Schallwellen abhängig (siehe auch Kapitel 2.2.2.2.). Wird der Follikel in der äquatorialen Ebene von den Schallwellen durchdrungen, stellt sich seine Wand als schmaler, gleichmäßig dicker, echointensiver Saum um die nicht echogebende Follikelflüssigkeit dar. Die Follikelwand ist bei den verschiedensten Größen der Follikel zu erkennen, läßt sich aber besonders gut bei denen mit einem Durchmesser von mehr als 20 mm ansprechen. Im Ultraschallbild wurden Stärken von 2 bis 4 mm, in wenigen Fällen auch 6 mm gemessen (Abb.13). Der Verlauf der Kurve zeigt eine durchschnittliche Wanddicke von 2,9 mm, die sich bis zur Ovulation hin nicht signifikant ($P > 0,05$) verändert.

Es konnte kein Schnittbild erzeugt werden, in dem die gesamte Wand eines Follikels darstellbar war. Die prozentuale Schätzung der erkennbaren Anteile ergab einen Durchschnitt von 44 % (Abb.13). Es existierten keine Unterschiede in Abhängigkeit vom Untersuchungszeitpunkt.

Im Bereich der Follikelhöhle zeigten sich bei vielen präovulatorischen Follikeln echogebende Strukturen, besonders an den Rändern der Follikelhöhle. Zur Ovulation hin war eine leichte Zunahme dieser Echogenität innerhalb der Follikelflüssigkeit zu beobachten (Abb.13).

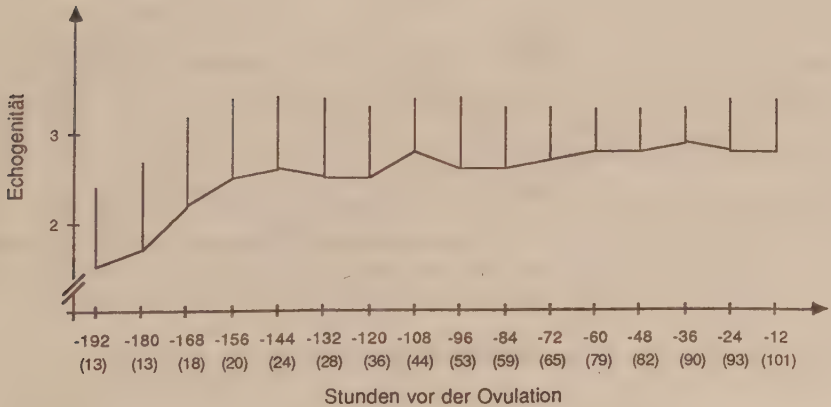
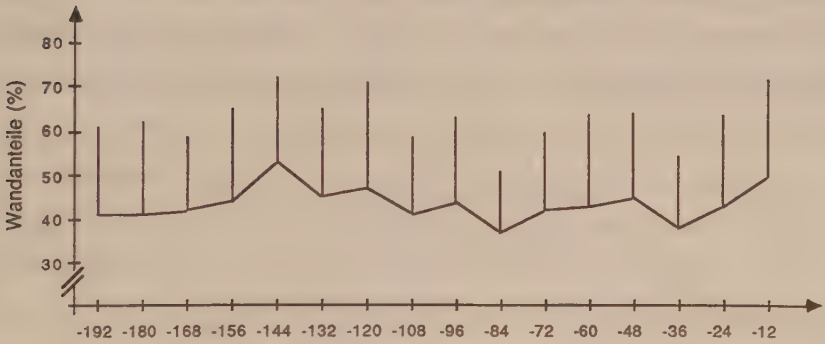
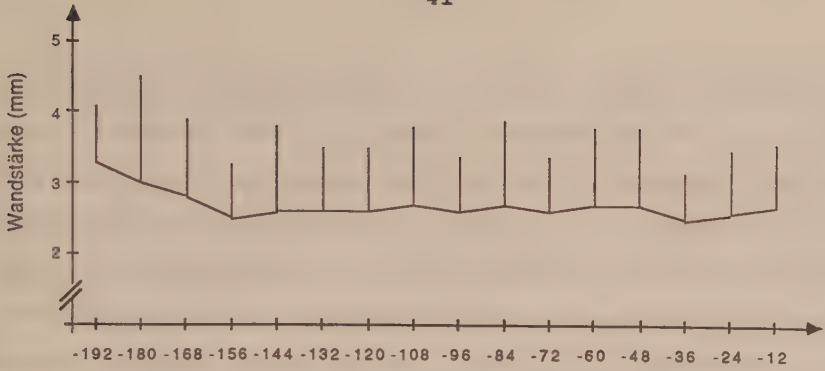


Abb.13: Änderungen der Follikelwandstärke, der erkennbaren Wandanteile und der Echogenität der präovulatorischen Follikel in Abhängigkeit vom Untersuchungszeitpunkt ($\bar{x} \pm s$). Werte in Klammern = Anzahl der untersuchten präovulatorischen Follikel.

Die Form der Follikel änderte sich ebenfalls zur Ovulation hin. 192 Stunden vor der Ovulation zeigten 71 % der präovulatorischen Follikel runde Formen (Abb.14). Ihr Anteil fiel zur Ovulation hin ab, um 12 Stunden vor derselben ein Minimum von 38 % zu erreichen. Der Anteil der Follikel mit ovaler Gestalt blieb im Untersuchungszeitraum von 192 bis 12 Stunden vor der Ovulation praktisch unverändert (ca. 31,5 %). Dagegen zeigten die Follikel mit unregelmäßigen Formen einen charakteristischen Verlauf. Vom Untersuchungszeitpunkt 192 Stunden bis 24 Stunden vor der Ovulation schwankte ihr Anteil um 10 %. 12 Stunden vor der Ovulation stieg er auf 34 % an.

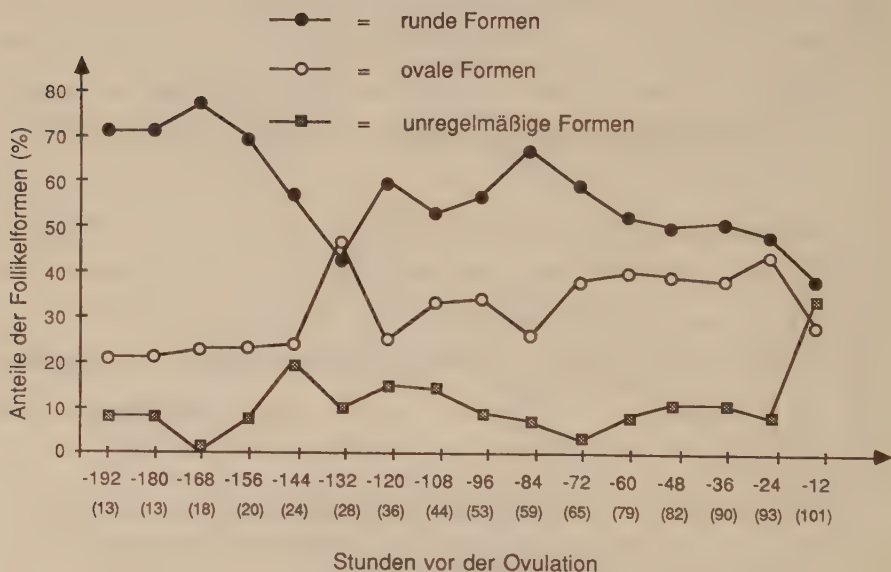


Abb.14: Form der präovulatorischen Follikel in Abhängigkeit vom Untersuchungszeitpunkt (Angaben in Prozent). Werte in Klammern = Anzahl der untersuchten präovulatorischen Follikel.

3.3.5. Cumulus oophorus

Bei einigen Follikeln wurden Bereiche der Wand erkannt, die hügelartig in das Zentrum der echolosen Flüssigkeitszone hineinragten. Es handelte sich um echogebende Strukturen von 3 bis 12 mm Höhe und einer Ausdehnung von 9 bis 25 mm. Sie waren entweder von homogener Struktur, oder zeigten eine echointensive Linie, die sich von der Follikelwand ausgehend in das Lumen vorwölbte. Der Raum zwischen dieser Linie und der Follikelwand war gering echogebend. Solche Strukturen wurden ausschließlich bei Follikeln über 30 mm Durchmesser gefunden (Abb.15). Bis auf wenige Ausnahmen konnte im Verlauf der Ultraschalluntersuchung nachgewiesen werden, daß entweder in diesen Bereichen kleine Follikel angrenzten, die sich in das Lumen der Follikelhöhle der großen Follikel vorwölbten, oder eine Art Follikelwandablösung bestand.

In zwei Fällen konnten diese Strukturen nicht als hineinragende kleine Follikel erklärt werden. Diese echogebenden Gebilde traten bei einem Follikel 12 Stunden und bei einem weiteren 48 Stunden vor der Ovulation auf (Abb.16, 17, 18). Bei beiden Follikeln lag diese Struktur im ventralen Bereich.



Abb. 15

Abb. 15: Follikel, bei dem eine echogebende Linie an der Follikelwand entspringt und sich in die Follikelhöhle vorwölbt.



Abb. 16

Abb. 16: Follikel 12 Stunden vor der Ovulation, der im ventralen Bereich eine hügelartige Vorwölbung in die Follikelhöhle zeigt.

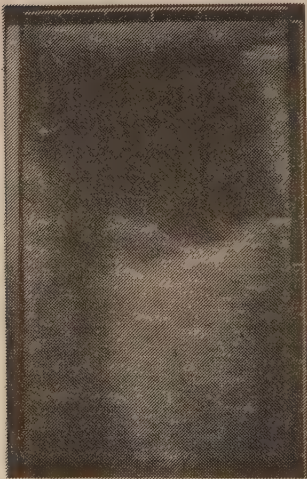


Abb. 17

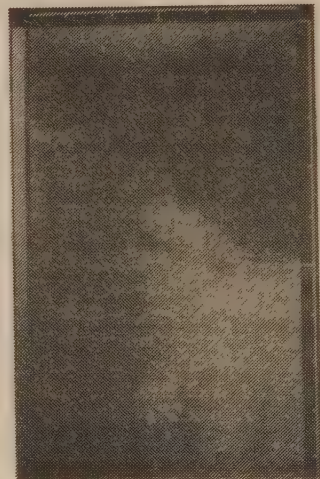


Abb. 18

Abb. 17 und Abb. 18: Follikel 48 Stunden vor der Ovulation, der im ventralen Bereich eine hügelartige Vorwölbung in die Follikelhöhle zeigt.

3.3.6. Konsistenzänderungen der Follikel

Während der Rosse kamen alle Konsistenzen von prall bis fluktuierend bei den präovulatorischen Follikeln vor. Im Zeitraum von 192 bis 12 Stunden vor der Ovulation wurde die Konsistenz sukzessive weicher (Abb.19). Zu Beginn der Untersuchungen waren die Follikel von praller bis weicher Konsistenz. 24 Stunden vor der Ovulation waren sie weich bis fluktuierend, um 12 Stunden vor der Ovulation weich bis fluktuierend bzw. fluktuierend zu sein. Betrachtet man einzelne Stuten, war diese kontinuierliche Veränderung der Konsistenz aber nicht immer vorhanden. Bei einigen Stuten schwankte die Konsistenz bis zum Ovulationstermin und konnte sogar 12 Stunden vor der Ovulation als härter empfunden werden als zu einem früheren Untersuchungszeitpunkt.

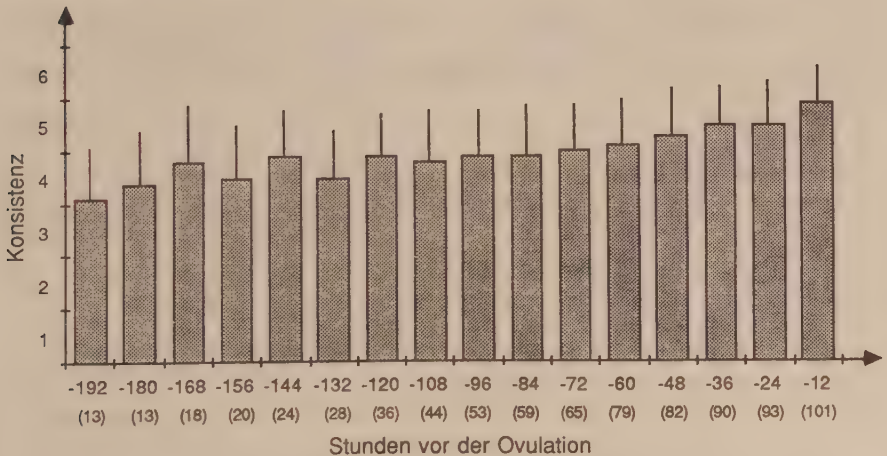


Abb.19: Konsistenz der präovulatorischen Follikel in Relation zum Untersuchungszeitpunkt ($\bar{x} \pm s$). Werte in Klammern = Anzahl der untersuchten präovulatorischen Follikel.

Die Art und Form der Funktionsgebilde, die bei der rektalen Palpation als fluktuierende Follikel angesprochen wurden, wurde mit dem Ultraschallbild verglichen (Tab.5). 40,4 % der als fluktuierend bezeichneten Follikel zeigten im Ultraschallbild einen Follikel mit unregelmäßiger Form. 53,5 % der Follikel waren dagegen trotz Fluktuation von runder oder ovaler Gestalt. Sechs der als Follikel angesprochenen Funktionsgebilde stellten sich im Ultraschall als Corpora hämorrhagica dar.

Tab.5: Art und Form von Funktionsgebilden in der Ultraschalldarstellung, die beim rektalen Befund als fluktuierende Follikel angesprochen wurden.

Art	Form	Anzahl	Prozent
Follikel	rund	37	37,3
	oval	16	16,2
	unregelmäßig	40	40,4
Corpora hämorrhagica		6	6,1

3.3.7. Möglichkeit der Vorhersage der Ovulation

Anhand der rektalen Palpation und der Ultraschalluntersuchung wurde jeder präovulatorische Follikel nach folgenden Kriterien beurteilt:

- War der Follikel größer als 30 mm?
- War die Form des Follikels unregelmäßig (Abb.20 bis 23)?
- War die Konsistenz des Follikels weich bis fluktuierend oder fluktuierend?

Erfüllten die Follikel diese Kriterien, wurde eine Ovulation für die nächsten 12 Stunden vorhergesagt. In 31 Fällen war diese Aussage richtig (Tab.6). Bei 3 Follikeln wurde aber eine Ovulation innerhalb der folgenden 12 Stunden erwartet, die dann erst nach 24 bzw. 48 Stunden eintrat. Es wurden also 3,7 % richtig positiv vorhergesagt. Insgesamt betrugen die richtigen Aussagen 91,4 %, denn bei 87,7 % der Fälle wurde eine richtig negative Vorhersage getroffen.

Tab.6: Ovulationsvorhersage für 101 Follikel bei 818 Untersuchungen

Aussage Ergebnis	Ovulation nach 12 h	keine Ovulation nach 12 h
Ovulation nach 12 h	31	67
keine Ovulation nach 12 h	3	717



Abb. 20



Abb. 21



Abb. 22

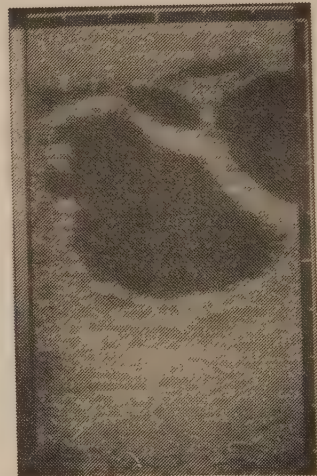


Abb. 23

Abb. 20 bis 23: Vier Ultraschallbilder von verschiedenen Follikeln, die innerhalb der folgenden 12 Stunden ovulierten. Deutlich sichtbar sind die möglichen unregelmäßigen Formen der Follikel.

3.3.8. Ovulationen in Relation zum Rosseende

Bei 89 untersuchten Ovulationen konnte der Tag des zugehörigen Rosseendes bestimmt werden (Tab.7).

Tab.7: Zeitpunkt der Ovulationen in Relation zum Rosseende und die Größe, des zu diesem Zeitpunkt ovulierenden Follikels

Rosseende in Tagen vor (-) und nach der (+) Ovulation	Anzahl der Ovulationen	Prozent	Größe des Follikels (mm)
			$\bar{x} \pm s$
-2	2	2,2	$39,0 \pm 1,4$
-1	9	10,1	$42,8 \pm 6,0$
Tag der Ovulation	28	31,5	$41,1 \pm 4,8$
+1	41	46,1	$40,7 \pm 5,3$
+2	5	5,6	$41,4 \pm 5,8$
+3	3	3,4	$43,0 \pm 6,1$
+4	1	1,1	36,0

In 77,6 % der Fälle erfolgte die Ovulation innerhalb der letzten beiden Tage der Rosse. Zwischen 2 und 4 Tagen vor Rosseende ovulierten 10,1 % der Follikel. In einigen Fällen trat die Ovulation erst nach Ende der Rosse ein (12,3 %). Die Follikel unterschieden sich in ihrer Größe nicht signifikant in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Ovulation ($P > 0,05$).

3.3.9. Rechts - Links - Verteilung der Ovulationen

Von 101 beobachteten Ovulationen traten an den rechten Ovarien 45 und an den linken 56 auf. Die Durchschnittsgröße der Follikel betrug 12 Stunden vor der Ovulation am rechten Ovar $40,2 \pm 6,4$ mm und am linken Ovar $41,1 \pm 5,4$ mm. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen festgestellt werden ($P > 0,05$).

3.3.10. Tag - Nacht - Verteilung der Ovulationen

Die Ovulationen waren gleichmäßig auf die Tag- und Nachtstunden verteilt ($P > 0,05$). Zwischen 6.00 und 18.00 Uhr ovulierten 48 Follikel und zwischen 18.00 und 6.00 Uhr 53 Follikel. Die Größe der Follikel, die tagsüber ovulierten, betrug $40,9 \pm 6,8$ mm und unterschied sich nicht signifikant von der Größe der Follikel, die nachts ovulierten ($40,5 \pm 5,0$ mm; $P > 0,05$).

3.3.11. Doppelovulationen

Es wurden 18 Doppelovulationen mittels der Ultraschalldiagnostik festgestellt. Davon verliefen 9 synchron, d.h. die Ovulation der beiden Follikel wurde zum selben Untersuchungstermin festgestellt. Bei den anderen 9 Doppelovulationen reichte der zeitliche Abstand von der ersten zur zweiten Ovulation von 12 bis 72 Stunden (nach 12 Stunden: 4 Ovulationen; nach 24 Stunden: 1 Ovulation; nach 36 Stunden: 3 Ovulationen; nach 72 Stunden: 1 Ovulation).

Die Follikel, die 12 Stunden nach der ersten Ovulation ovulierten, stagnierten in ihrem Wachstum oder nahmen um durchschnittlich 1,75 mm in ihrer Größe ab, um dann zu ovulieren.

Die Follikel, die 36 und 72 Stunden nach der ersten Ovulation ovulierten, wuchsen noch bis 24 Stunden vor ihrer Ovulation, um danach in ihrer Größe abzunehmen.

3.4. Ergebnisse der Progesteronbestimmungen

Die Progesteronkonzentrationen des Blutes wurden mit zwei verschiedenen Testmethoden bestimmt. Der Enzymimmunoassay (EIA) galt als die unter Praxisbedingungen durchführbare Methode. Seine Ergebnisse wurden anhand der Werte des Radioimmunoassays (RIA) überprüft.

Der Korrelationskoeffizient zwischen den mit Hilfe des EIA's im Serum ermittelten Werten und den mittels RIA im Plasma erhobenen Konzentrationen betrug $r = 0,89$. Dabei unterschieden sich die Absolutwerte des Progesteronspiegels bei den EIA-Bestimmungen signifikant ($P < 0,001$) von denen der RIA-Methode. Während des Östrus lagen die Mittelwerte der im EIA gemessenen Konzentrationen niedriger als die in der RIA-Methode festgestellten. Nach der Ovulation aber stiegen die Werte des EIA-Tests auf höhere Konzentrationen als die der Referenzmethode an.

In der Milch vorhandene Progesteronkonzentrationen wurden ausschließlich mit dem RIA gemessen. Diese Werte waren mit den Bestimmungen aus dem EIA-Test des Serums eng korreliert ($r = 0,86$). Auch hier bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den Absolutwerten der Testmethoden - während des Östrus niedrigere Werte in dem EIA-Serum-Test als in dem RIA-Milchverfahren, nach der Ovulation steilerer Anstieg der Konzentrationen im EIA-Nachweis.

3.4.1. Ergebnisse des Enzymimmunoassays

Die Progesteronwerte wurden in Einzelbestimmungen gemessen. Je Testplatte wurden 3 Kontrollproben mituntersucht. Ihre Variationskoeffizienten nahmen mit steigenden Konzentrationen der Proben zu (Tab.8).

Tab.8: Progesteronwerte der 3 Kontrollproben ($\bar{x}$; s; s%)

Proben- nummer	Anzahl	Mittelwert ($\bar{x}$)	Standardab- weichung (s)	Variationsko- effizient (%)
I	9	0,82	0,08	9,7
II	9	3,61	0,52	14,4
III	9	8,65	1,69	19,5

Die Absolutwerte der Serumproben der klinisch untersuchten Stuten lagen zwischen 0 und 30 ng/ml. Zur Ovulation hin erreichten sie Werte unter 1 ng/ml Serum, um nach der Ovulation anzusteigen, ein Maximum zu erreichen und danach wieder abzufallen.

Ab dem sechsten bis einen Tag vor der Ovulation lagen alle Werte unterhalb eines Grenzwertes von 1 ng/ml Serum (Abb.24). Sie be-

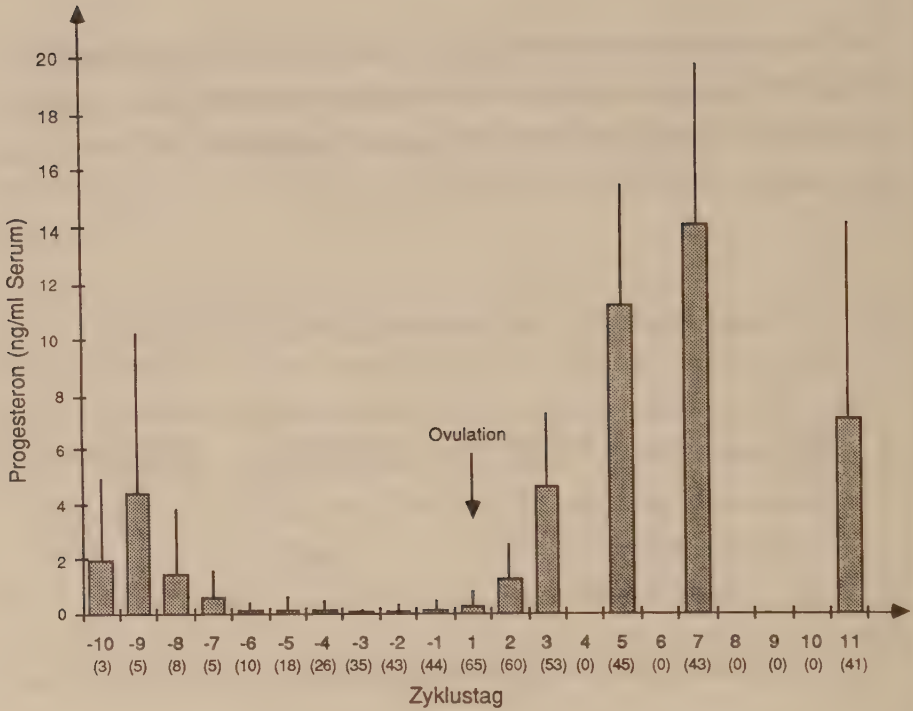


Abb.24: Progesteronkonzentrationen im Blutserum (ng/ml) in Abhängigkeit vom Zyklustag ($\bar{x} \pm s$). Bestimmung mit EIA. Werte in Klammern = Anzahl der untersuchten Proben.

wegten sich im Bereich von 0 bis 0,9 ng/ml Serum. Am Tag der Ovulation zeigten zwei Stuten einen Anstieg auf Werte gleich bzw. größer 1 ng/ml Serum. In einem dieser Fälle konnte auf dem zur Ovulation kontralateralen Ovar ein Follikel festgestellt werden, der in der Größe einem präovulatorischen Follikel entsprach aber nicht ovulierte. Zwei Tage nach der Ovulation hatten 100 % der Fälle den Grenzwert überschritten.

Der Tag der Ovulation unterschied sich signifikant von dem zweiten Tag nach der Ovulation und den darauf folgenden Tagen (Scheffé-Test: $P = 0,05$). Keine signifikanten Unterschiede ergaben sich zwischen den 6 Tagen vor der Ovulation und dem Tag der Ovulation.

Bis auf wenige Ausnahmen befanden sich alle Stuten, die einen Progesteronwert kleiner 1 ng/ml Serum hatten, in Rosse. Die Ausnahmen waren:

- 6 Stuten, die im Monat März untersucht wurden. Diese Stuten zeigten keine Rosseanzeichen, obwohl ihre Werte unter 1 ng/ml Serum lagen. Drei dieser Stuten roßten erst ab dem letzten Tag vor der Ovulation.
- 7 Stuten zeigten noch keine Rosse, obwohl ihre Werte schon unter dem Grenzwert lagen. Spätestens 3 Tage vor der Ovulation zeigten sie dann aber eindeutige Rosseanzeichen.
- 9 Stuten roßten nach der rektal festgestellten Ovulation nicht mehr, obwohl ihre Progesteronkonzentrationen den Wert von 1 ng/ml Serum noch nicht überschritten hatten.

3.4.2. Ergebnisse des Radioimmunoassays

3.4.2.1. Progesteronwerte im Blutplasma

Die bei dieser Methode durchgeführten Doppelbestimmungen gingen jeweils als gemittelter Wert in die Berechnungen ein. Die Absolutwerte lagen zwischen 0 und 14,53 ng/ml Plasma (Abb.25). Betrachtet man das Verhalten der Werte zu einem Grenzwert von 1 ng/ml Plasma, so liegen am Tag der Ovulation 97 %, am Tag 2 63,4 % und am Tag 3 15,1 % unter diesem Grenzwert. Der Scheffé-Test ($P = 0,05$) gab signifikante Unterschiede für den Tag der Ovulation und den Tag 3 des Zyklus an. Ebenso unterschieden sich die darauffolgenden Zyklustage signifikant vom Tag der Ovulation.

3.4.2.2. Progesteronwerte in der Milch

Die Absolutwerte der Progesteronkonzentrationen in der Milch lagen zwischen 0,03 und 6,89 ng/ml Milch. Es handelte sich dabei um gemittelte Doppelbestimmungen. Vom Tag 7 vor der Ovulation bis zum Tag der Ovulation waren alle Werte kleiner als ein Grenzwert von 2 ng/ml Milch (Abb.26). Signifikant unterschied sich der Tag der Ovulation vom Zyklustag 3 (Scheffé-Test: $P = 0,05$). An diesem Tag lagen 73,7 % über dem Grenzwert von 2 ng/ml Milch. Vor der Ovulation bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Progesteronwerten der einzelnen Zyklustage.

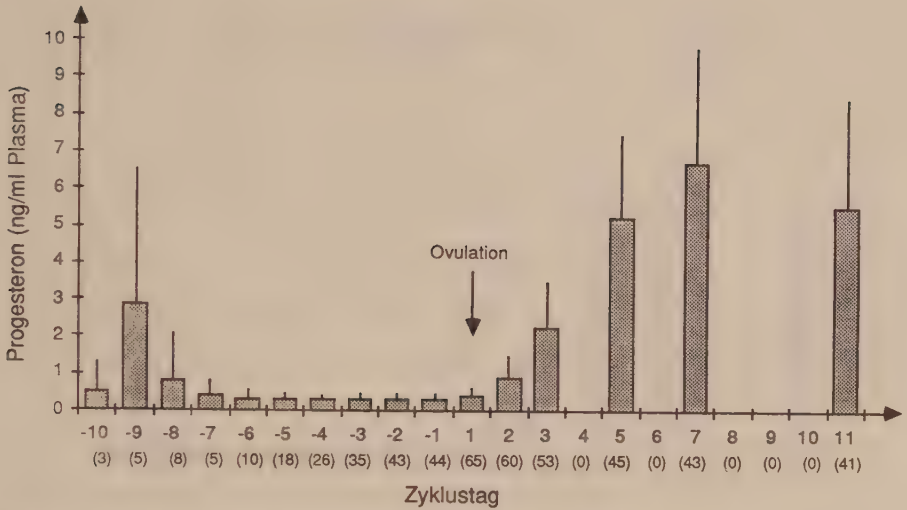


Abb.25: Progesteronkonzentrationen im Blutplasma (ng/ml) in Abhängigkeit vom Zyklustag ($\bar{x} \pm s$). Bestimmung mit Radioimmunoassay (RIA). Werte in Klammern = Anzahl der untersuchten Proben.

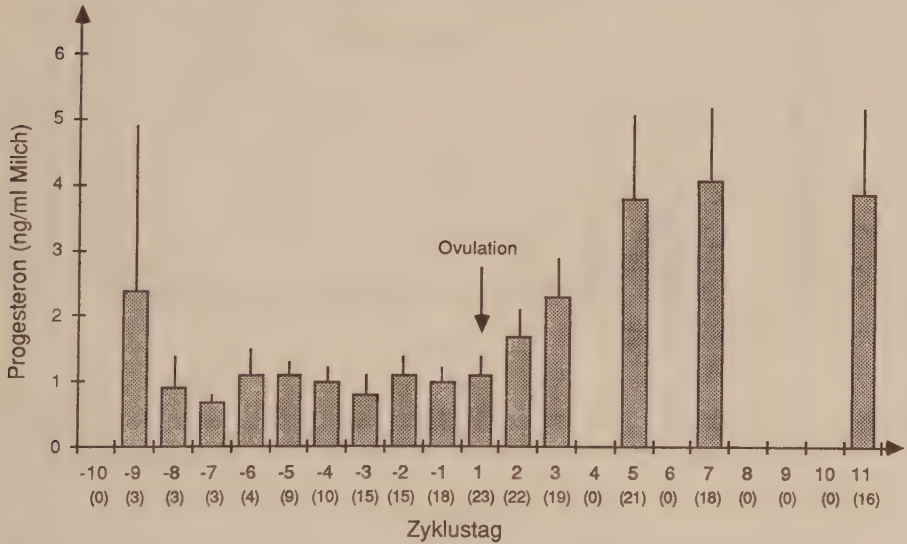
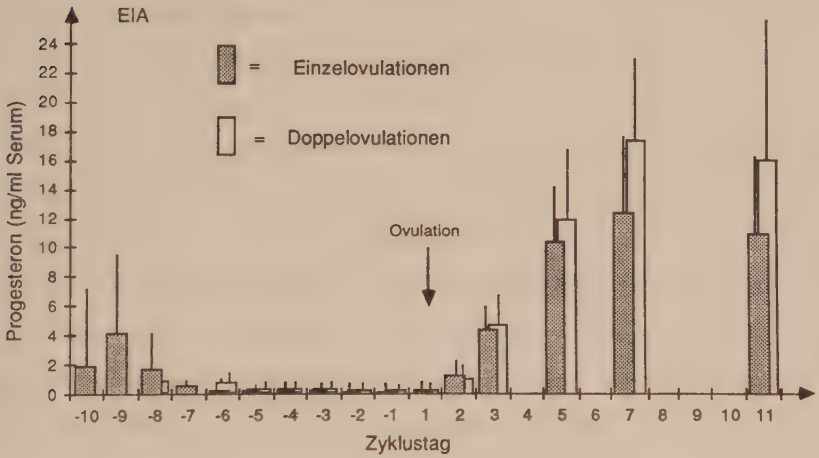
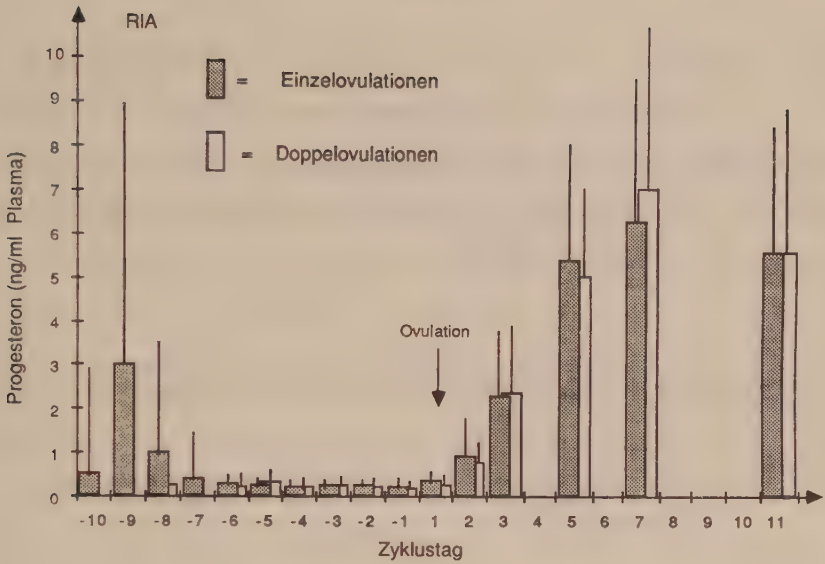


Abb.26: Progesteronkonzentrationen in der Milch (ng/ml) in Abhängigkeit vom Zyklustag ($\bar{x} \pm s$). Bestimmung mit Radioimmunoassay (RIA). Werte in Klammern = Anzahl der untersuchten Proben.

3.4.3. Progesteronwerte im Vergleich bei Einzel- und Doppelovulationen

Die mit Hilfe des EIA's bestimmten Serumprogesteronwerte zeigten bei Stuten mit synchronen oder asynchronen Doppelovulationen an den Tagen 3, 5, 7 und 11 höhere Absolutwerte als bei Stuten mit Einzelovulationen (Abb.27). Signifikante Unterschiede konnten aber nur für die Tage 5 und 7 festgestellt werden ($P < 0,05$).

Die Referenzmethode mit dem RIA-Nachweis konnte diese Aussage nicht bestätigen. Es wurden zwar an den Tagen 3, 7 und 10 höhere Werte für die Doppelovulationen im Vergleich zu den Einzelovulationen festgestellt (Abb.27). Es ließen sich aber keine signifikanten Unterschiede nachweisen ($P > 0,05$).



Zyklustag	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
n																					
Einzel.	3	5	6	5	9	15	21	27	33	34	51	46	39	0	33	0	31	0	0	0	30
n																					
Doppelo.	0	0	2	0	1	3	5	8	10	10	14	14	14	0	12	0	12	0	0	0	11

Abb.27: Progesteronkonzentrationen im Blutplasma (Bestimmung mit RIA) und im Blutserum (Bestimmung mit EIA) (ng/ml) in Abhängigkeit vom Zyklustag ($\bar{x} \pm s$). Vergleich bei Einzel- und Doppelovulationen. Werte in Klammern = Anzahl der untersuchten Proben.

Bei den asynchron verlaufenden Doppelovulationen konnte in 5 Fällen der Progesteronwert zum Zeitpunkt der zweiten Ovulation bestimmt werden (Tab.9). Diese Konzentrationen lagen alle in den Bereichen, die zu diesem Untersuchungszeitpunkt auch bei den Einzelovulationen gefunden wurden.

Tab.9: Serumprogesteronkonzentration (EIA-Bestimmung) bei asynchron verlaufenden Doppelovulationen zum Zeitpunkt der zweiten Ovulation

Zeitliche Differenz zwischen 1. und 2. Ovulation (in Stunden)	Progesteronkonzentration (ng/ml)
12	0,5
24	0,7
36	3,7
36	4,2
72	13,6

4. Diskussion

Die Vorhersage des Ovulationszeitpunktes ist ein zentrales Problem bei der künstlichen Besamung der Stute. Besonders bei der Verwendung von Tiefgefriersperma gilt üblicherweise die Insemination kurz vor der Ovulation als optimal.

Die rektale Palpation der Ovarien ist das einzige routinemäßig eingesetzte Verfahren, um eine Ovulation festzustellen. Da sich das Ultraschallverfahren in den letzten Jahren zu einem wertvollen Diagnostikum in der Gynäkologie der Stute entwickelt hat, war das Ziel der vorliegenden Arbeit, mit Hilfe der Sonographie den Ovulationsverlauf eventuell besser zu bestimmen.

Die Progesteronbestimmungen der hier vorgelegten Untersuchungen dienten dazu, die im Ultraschallbild festgestellten Ovulationen mit dem Anstieg der Hormonkonzentrationen zu korrelieren. Zusammen mit der klinischen Untersuchung konnte dann nachgewiesen werden, daß es sich wirklich um eine Ovulation gehandelt hatte. Der dabei verwendete Enzymimmunoassay Enzygnost^R (Hoechst) war auch unter den Bedingungen einer Großtierpraxis gut zu handhaben.

Die Befunde wurden an Stuten gewonnen, die frei waren von klinischen Erkrankungen. Alle erfüllten die für eine Bedeckung oder Besamung erforderlichen Voraussetzungen. Mit einer durchschnitt-

lichen Zyklusdauer von $22,3 \pm 2,7$ Tagen und einer Rossedauer von $6,7 \pm 4,3$ Tagen lagen sie im Bereich der in der Literatur angegebenen Werte.

Bei Stuten liefert die rektale Palpation außerhalb der Rosse keine Anhaltspunkte, um den Zyklusstand ansprechen zu können. Erst mit Beginn der Rosse kann durch die zu erwartende Größenzunahme einer oder mehrerer Follikel auf das Zyklusgeschehen geschlossen werden. GINTHER (1979) gibt eine tägliche Wachstumsrate von 3,5 mm pro Tag für diese präovulatorischen Follikel bei Ponystuten an, wobei dieses Wachstum sich im Durchschnitt über 5,7 Tage erstreckt. Zu Beginn der Rosse sind die Follikel bei Ponystuten nach NISHIKAWA (1959) im Durchschnitt 27 mm groß, um am letzten Tag vor der Ovulation einen Durchmesser von ca. 39 mm zu erreichen. Als Mindestgröße werden 30 mm für einen ovulationsreifen Follikel angegeben. Es wird aber auch von Follikeln mit 20 mm berichtet, die zur Ovulation kommen. Maximal können diese Follikel 60 mm erreichen (GINTHER 1979).

Die sonographischen Befunde der vorliegenden Arbeit bestätigen teilweise die oben zitierten rektal erhobenen Werte der Follikel. Die tägliche Größenzunahme betrug 2,5 mm, wobei die Follikel $5,9 \pm 2,1$ Tage lang wuchsen. PIERSON und GINTHER (1985b) beschreiben anhand ihrer Ultraschalluntersuchungen eine ähnliche Wachstumsrate mit 2,7 mm pro Tag und eine Periode für die Zunahme von 7 Tagen.

Die durchschnittlichen Größen der Follikel lagen bei den Ultraschallmessungen dieser Arbeit zu Beginn der Rosse bei 33,0 mm und 12 Stunden vor der Ovulation bei 40,5 mm. Zu diesem Zeitpunkt betrug die minimale Größe 26,5 mm und die maximale 51,5 mm. PIERSON und GINTHER (1985b) berichten in ihren Ultraschalluntersuchungen von einer minimalen Größe von 30 mm und einer maximalen von 58 mm am letzten Tag vor der Ovulation.

Für die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen der rektalen Schätzung und der Ultraschallmessung wären folgende Erklärungen in Erwägung zu ziehen. Zum einen können Unterschiede in der Follikelgröße bei Ponystuten und Stuten existieren. Zum zweiten wird die Zwei-Wege-Meßtechnik der Ultraschalluntersuchung der rektalen Größenschätzung überlegen sein. Hinweisend dafür ist, daß zwar der Korrelationskoeffizient zwischen der rektalen Palpation und der Ultraschalluntersuchung in der vorliegenden Arbeit bei $r = 0,84$ liegt, während der meisten Untersuchungstermine die Follikel aber rektal größer geschätzt werden. Drittens könnten technische Faktoren der Sonographie dafür verantwortlich gemacht werden. Ultraschallwellen bewegen sich in flüssigkeitsgefüllten Gebilden schneller fort als in dichtem Gewebe. Schallwellen, die auf ihrem Weg eine Flüssigkeit durchdrungen haben, bilden also einen Punkt näher zur Sonde hin ab als Schallwellen, die parallel einfallen und einen Punkt darstellen, der auf gleicher Höhe liegt.

Das Wachstumsverhalten des größten Follikels, der auch als präovulatorischer Follikel bezeichnet wird, kann anhand der vorliegenden Ultraschalluntersuchungen noch genauer beschrieben werden. Vom Zeitpunkt der ersten Beobachtung des präovulatorischen Follikels bis 36 Stunden vor der Ovulation nimmt dieser an Größe zu. Danach erreicht die Wachstumskurve ein Plateau und fällt 12 Stunden vor der Ovulation um 0,8 mm ab. PALMER und DRIANCOURT (1980) bestätigen dies, wohingegen PIERSON und GINTHER (1985b) bei einem 24-stündigen Untersuchungsrythmus keine Abnahme des Durchmessers einen Tag vor der Ovulation feststellen.

Der zweitgrößte Follikel zeigt eine fallende Tendenz seiner Größe von Beginn der Rosse ($18,2 \pm 6,4$ mm) bis 12 Stunden vor der Ovulation ($17,2 \pm 6,4$ mm). Auch GINTHER (1986) beschreibt diese Abnahme des Durchmessers des zweitgrößten Follikels.

Dennoch ist anhand dieses Wachstumsverhaltens der einzelnen Follikel keine genaue Vorhersage des Ovulationszeitpunktes möglich, da die einzelnen Phasen einen zu langen Zeitraum einnehmen.

Die rektale Palpation der Ovarien gibt nicht nur die Möglichkeit, die Größe der Follikel zu bestimmen sondern auch ihre Konsistenz. Die Angaben über die Konsistenzänderungen lassen sich aber nicht standardisieren, sie sind nur subjektiv zu erfassen. DAY (1940), Van RENSBURG und Van HEERDEN (1953) sowie ARTHUR (1969) beschreiben ein "Weicherwerden" des Follikels zur Ovulation hin. PARKER (1971) stellt fest, daß der präovulatorische Follikel 12 Stunden

vor der Ovulation weicher ist als 72 Stunden davor. ANDREWS und MCKENZIE (1941), LOY (1970), WITHERSPOON und TALBOT (1970) sowie HUGHES et al. (1972) können ein generelles "Weicherwerden" der Follikel zur Ovulation hin nicht feststellen. Ihrer Meinung nach werden die Follikel zur Ovulation hin weich und dann eventuell wieder härter, um in manchen Fällen vor der Ovulation nochmals die Konsistenz zu ändern.

Die vorliegende Arbeit zeigt, daß generell die Follikel zur Ovulation hin weicher werden. In Ausnahmen werden Abweichungen registriert, wobei aber nicht zu entscheiden ist, ob eine Änderung des subjektiven Empfindens oder eine tatsächliche Konsistenzänderung vorliegt. Ein Vergleich der sonographischen Befunde mit den rektal erhobenen Konsistenzbefunden macht deutlich, daß das unterschiedliche Empfinden Schwankungen unterliegt. Follikel, die als fluktuierend bezeichnet werden, haben nur zu 40 % unregelmäßige Formen im Ultraschallbild. Wenn man aber davon ausgeht, daß der Verlust des Innendruckes zu dieser unregelmäßigen Gestalt führt, müßte ein größerer Prozentsatz derartiger Gebilde gefunden werden. Die ganze Problematik wird dadurch noch erhöht, daß der Innendruck bei den einzelnen Stuten individuelle Niveauunterschiede aufweist.

Die rektale Palpation läßt also eine Klassifizierung der präovulatorischen Follikel anhand ihrer Größe und Konsistenz zu. Der Vergleich mit den Ultraschallbefunden kann diese Ergebnisse teil-

weise bestätigen, zeigt aber auch die Grenzen der rektalen Palpation auf. Im Ultraschallbild können weitere, bisher noch nicht angesprochene Parameter beurteilt werden. So ist um die Follikelhöhle eine Gewebeschicht zu erkennen, die sich in ihrer Echogenität vom umgebenden Ovarstroma unterscheidet. Diese Struktur soll der Granulosa- und Thekazellage des Follikels entsprechen (PIERSON und GINTHER 1985b).

Die Stärke der Follikelwand liegt in einem Bereich von 3 mm. Die Angabe von PIERSON und GINTHER (1985b), daß die Follikelwand zur Ovulation dicker wird, ist bei der vorliegenden, im 12stündigen Intervall vorgenommenen Untersuchung nicht zu registrieren. Auch die Möglichkeit der sonographischen Darstellung von Wandanteilen des Follikels weist zur Ovulation hin keine Änderung auf. PIERSON und GINTHER (1985b) beschreiben anhand einer siebenstufigen Skalierung eine Zunahme der Echogenität der Follikelwand. Jedoch liefert auch dieses Merkmal keine Anhaltspunkte, um den Ovulationszeitpunkt ansprechen zu können.

Die Echogenität der Follikelflüssigkeit ist ebenfalls im Ultraschallbild zu bestimmen. Zur Ovulation hin ist tendenziell eine Zunahme der echogebenden Impulse zu erkennen, die in dieser Arbeit als Echopunkte und Echoschlieren bezeichnet werden. Es könnten zelluläre Bestandteile innerhalb der Follikelflüssigkeit sein, die von Wandablösungen herrühren. Ob es sich bei diesen echogebenden Strukturen um den Cumulus oophorus handelt, ist als sehr fraglich zu betrachten. In der Humanmedizin gibt es Berichte

über die Erkennbarkeit des Cumulus oophorus (HACKELÖER und ROBINSON 1978, HANSMANN et al. 1985). Die vorliegende Arbeit zeigt jedoch keinen Hinweis auf die Nachvollziehbarkeit beim Follikel der Stute. Die beiden Fälle, in denen echogebende Strukturen im ventralen Bereich der Follikelhöhle gefunden wurden, entsprechen nicht den Erwartungen über die Größe des Cumulus oophorus. Diesbezüglich fehlen Größenangaben beim Follikel der Stute. Für den Graaf'schen Follikel der Frau gibt WATZKA (1957) die Höhe des Cumulus oophorus mit 0,7 mm und die Breite mit 0,5 - 0,9 mm an. Ähnliche Bereiche werden wahrscheinlich für die Stute gelten. Die gefundenen Echostrukturen aber sind um ein Vielfaches größer.

Eine weitere Erklärung für das Auftreten derartiger echogebender Strukturen ist das Angrenzen kleiner Follikel. In manchen Fällen kann eindeutig nachgewiesen werden, daß sich kleine Follikel in den präovulatorischen Follikel hineinwölben. Deren Wand verursacht nun das Auftreten von Echoschlieren und Echohaufen.

GINTHER (1986) kann diese Zunahme der Echogenität der Follikelflüssigkeit nicht bestätigen und spricht von einem Problem der lateralen Auflösung. Er bezeichnet diese Echostrukturen als Artefakte des Ultraschalls.

Gestaltänderungen der präovulatorischen Follikel, die im Ultraschallbild zu erkennen sind, geben einen Hinweis auf eine bevorstehende Ovulation. Während der Rosse fällt der Anteil runder Follikel von 77 % zu Beginn der Rosse auf 38 % 12 Stunden vor der

Ovulation. Der Anteil ovaler Follikel schwankt um einen Bereich von 30 % und läßt keine eindeutige Tendenz erkennen. Die unregelmäßigen Formen nehmen dagegen in diesem Zeitraum zu. Sie schwanken um Werte von 10 %, um dann 12 Stunden vor der Ovulation auf 34 % anzusteigen. Zu diesem Zeitpunkt haben 62 % der Follikel entweder eine ovale oder eine unregelmäßige Gestalt. PIERSON und GINTHER (1985b) finden, daß 84 % der Follikel ihre Form zur Ovulation hin ändern. Sie stellen nur 16 % der Follikel mit runder Gestalt bei der letzten Untersuchung vor der Ovulation fest.

Die Gestaltänderung ergibt in Kombination mit den in Kapitel 3.3.7. beschriebenen Kriterien - Größe mindestens 30 mm und weich bis fluktuierende bzw. fluktuierende Konsistenz - bei 3,7 % eine richtig positive Aussage und in 87,7 % der Fälle eine richtig negative Aussage über eine Ovulation innerhalb der nächsten 12 Stunden.

In dieser Arbeit wurden flüssigkeitsgefüllte Gebilde ab 3 mm Durchmesser an Hand des Ultraschallbildes als Follikel angesprochen. Es konnte also die Follikelanzahl der einzelnen Ovarien bestimmt werden. Die Gesamtzahl der Follikel änderte sich aber auf dem Ovar, an dem die Ovulation eintrat, nicht.

GINTHER (1986) beschreibt dies ebenfalls. Er erkennt, daß nach Einteilung der Follikel in Größenklassen die Zahl der Follikel mit 16 - 20 mm und mehr als 20 mm Größe während des Östrus ab-

nimmt, im gleichen Zeitraum aber die Anzahl der Follikel mit 2 bis 5 mm Größe ansteigt. Auch aus diesen Ergebnissen ist aber eine Vorhersage der Ovulation nicht möglich.

Um den Zeitraum der Ovulation einzugrenzen, wurde bei zwei Ovulationen in kürzeren Intervallen untersucht. Dabei konnte man die in Abb.4 gezeigten Zwischenstadien sehen, bei denen ein nicht echogebendes, flüssigkeitsgefülltes Lumen von einem echointensiven, unregelmäßigen Randsaum umgeben war. Da diese Gebilde während der Untersuchungen im 12-Stunden-Rhythmus nicht gefunden wurden, muß davon ausgegangen werden, daß sie nur sehr kurz andauern. Diese Beobachtungen sprechen dafür, daß eine Ovulation innerhalb von wenigen Minuten abläuft. So berichtet HEINZE (1975) von einem Auslaufen der follikulären Flüssigkeit innerhalb von 25 Sekunden, was er mittels Pelviskopie festgestellt hat. GINTHER und PIERSON (1984b) haben zwei Stuten während der Ovulation mit Ultraschall untersucht. Sie geben an, daß fünf Minuten nach der Ovulation in diesem Bereich eine stark echogebende Struktur darstellbar ist. An der Stelle des Follikels hat sich also ein vom Ovarstroma abgesetzter Körper gebildet.

Hier ergibt sich nochmals ein Vorteil der Ultraschalluntersuchung gegenüber der rektalen Palpation. Aufgrund der anatomischen Besonderheiten des Stutenovars im Vergleich zu anderen Tierspezies ist eine Zyklusdiagnose anhand der rektalen Palpation nicht immer möglich. Erstens besteht die Verwechslungsmöglichkeit zwischen einem jungem Corpus luteum und einem sprungreifen Follikel (GIN-

THER 1979), und zum zweiten kann im Diöstrus das Zyklusstadium nicht angesprochen werden, da in den meisten Fällen ein Corpus luteum nicht zu palpieren ist.

In der vorliegenden Arbeit wird nachgewiesen, daß von 99 Funktionsgebilden, die sich rektal als fluktuierende Follikel darstellen, 6 im Ultraschallbild als junge Corpora lutea zu sehen sind. Nach einer vonstatten gegangenen Ovulation ist in den meisten Fällen ein abgrenzbares Corpus luteum zu erkennen, das sich als echointensive Zone darstellt. In den wenigen Fällen, in denen sich das junge Corpus luteum nicht vom Ovarstroma abhebt, ist ca. 2 Tage nach der Ovulation eindeutig ein Corpus luteum zu sehen.

Die Ovulationen in diesen Ausnahmefällen sind aber bei mehrmaligen Untersuchungen vor der Ovulation sofort am Fehlen des großen Follikels zu erkennen.

Die angestellten Untersuchungen gaben keinen Hinweis auf einen circadianen Rhythmus der Ovulationen. 53 Ovulationen in der Zeit von 18.00 bis 6.00 Uhr und 48 Ovulationen in der Zeit von 6.00 bis 18.00 Uhr entsprachen den Ergebnissen von GINTHER (1979) und ANDRES (1985).

Die Angaben über die Relation der Ovulationen zum Rosseende können mit denen von GINTHER (1979) verglichen werden. In 77,6 % der Fälle erfolgt die Ovulation an den beiden letzten Tagen der Ros-

se. Zwischen 2 und 4 Tagen vor Rosseende ovulieren 10,1 % der Follikel und bei 12,3 % tritt die Ovulation erst nach Ende der Rosse ein. Die Ultraschalluntersuchungen bestätigen also die Ergebnisse der rektalen Palpation. Die bekanntermaßen bei der letztgenannten Methode auftretenden Fehlinterpretationen zwischen jungem Corpus luteum und sprungreifem Follikel kommen also nicht gehäuft bei Stuten vor, deren Rosse entweder vor der Ovulation endet oder mehr als zwei Tage nach der Ovulation andauert.

Bei Doppelovulationen wird beobachtet, daß der Follikel, der als zweiter zur Ovulation kommt, generell kleiner ist als der erst-ovulierende. Eine Vorhersage der zweiten Ovulation durch Vergleich der Größe und der Gestalt mit dem ersten Follikel ist aber nicht möglich. Bei Doppelovulationen ist ebenfalls die Tendenz zu erkennen, daß der zweite Follikel 12 Stunden vor der Ovulation in seiner Größe abnimmt.

Die Progesteronwerte in Blut und Milch bestätigten die Befunde der Ultraschalluntersuchungen. Wird mit dieser Methode eine Ovulation festgestellt, ist spätestens zwei Tage danach im Blut und drei Tage danach in der Milch ein signifikanter Progesteronanstieg nachweisbar. Ein funktionsfähiges Corpus luteum ist also entstanden.

Diese Aussage ist unabhängig von den beiden in dieser Arbeit verwendeten Nachweismethoden. Obwohl sich der Enzymimmunoassay und der Radioimmunoassay in ihren Absolutwerten unterscheiden,

ist die Endaussage bei beiden Bestimmungen die gleiche. Somit bietet die EIA-Methode für den Praktiker eine sichere und schnelle Bestimmung der Progesteronkonzentrationen.

Die gute Korrelation von $r = 0,89$ zwischen dem Enzymimmunoassay und der Referenzmethode, dem Radioimmunoassay, zeigt, daß der EIA ein wertvolles Hilfsmittel in der Zyklusdiagnostik der Stuten ist. Von Tag -6 bis Tag -1 liegen alle Progesteronwerte, die mit dem EIA bestimmt werden, unter einem Grenzwert von 1 ng/ml Serum. Dies entspricht den veröffentlichten Angaben beim kompetitiven Protein-Bindungs-Test und beim RIA (SMITH et al. 1970, PLOTKA et al. 1972, HOLTAN et al. 1973, STABENFELDT et al. 1972, SQUIRES et al. 1974, LOTZMER-JENTGES et al. 1979 und GENTZ 1982). ALLEN und PORTER (1987) geben für ihre Bestimmungen mit einem EIA ebenfalls diesen Grenzwert an.

Der von PLOTKA et al. (1975) erwähnte Progesteronanstieg beim RIA-Nachweis 10 Stunden nach der Ovulation kann mit dem EIA nicht nachvollzogen werden. Ebenso wird die Möglichkeit, von der BREDE (1979) berichtet, daß in einigen Fällen ein Progesteronanstieg bereits vor dem Eisprung eintritt, in den vorliegenden Untersuchungen nicht beobachtet.

ANDRES (1985) hat einen signifikanten Anstieg der Progesteronkonzentration zum Zeitpunkt des palperten Eisprungs für die RIA-Methode festgestellt. Er kann aber aus diesen periovulatorischen Progesteronwerten keine diagnostischen Schlüsse ziehen. Eine Er-

klärung für diesen frühen Anstieg könnte sich aus der vorliegenden Arbeit ergeben. Bei einer Stute stieg der Progesteronwert am Tag der Ovulation auf über 1 ng/ml Serum an. Diese Stute zeigte auf dem zur Ovulation kontralateralen Ovar einen Follikel, der in der Größe einem präovulatorischen Follikel entsprach, der aber nicht ovulierte. Vermutlich bildete dieser Follikel in seiner Follikelwand Luteinzellen, die für den Anstieg des Progesteronwertes verantwortlich waren.

STABENFELDT et al. (1972) und HUGHES et al. (1972) berichten, daß einige Stuten auch während der lutealen Phase ovulieren. Man nimmt daher an, daß bei der Stute die Ovulation durch Progesteron nicht so stark gehindert wird wie bei anderen Tierspezies. In der eigenen Arbeit wurden zwar keine Follikel beobachtet, die im Diöstrus ovulierten, die hohen Progesteronwerte aber bei den asynchronen Doppelovulationen zum Zeitpunkt der zweiten Ovulation weisen darauf hin, daß der negative Feedback des Progesterons auf die Ovulation keine starke Auswirkung hat.

Die Stutenmilch ist ebenfalls dazu geeignet, den Progesteronwert zu bestimmen. Nach STOLLA und BADER (1984) besteht kein Einfluß des Fettgehaltes auf die Progesteronkonzentration der Milch. Die Milchproben können also ohne Fettextraktion zur Bestimmung verwendet werden.

In der vorliegenden Arbeit stiegen die Progesteronwerte in der Milch langsamer an als die im Blut. Vor der Ovulation überschrit-

ten die Konzentrationen einen Grenzwert von 2 ng/ml Milch nicht. Am Tag 3 war ein signifikanter Unterschied zum Tag der Ovulation festzustellen. Dieser Grenzwert für ein endokrin aktives Corpus luteum stimmt mit den Angaben von GUNTHER et al. (1980) und STOLLA und BADER (1984) überein.

Der Nachweis des Progesterons im Blut und in der Milch ermöglicht durch Vergleich mit einem Grenzwert von 1 ng/ml Serum bzw. 2 ng/ml Milch die Zyklusdiagnose der Stute. In der vorliegenden Arbeit wurde eine Ausnahme festgestellt. Bei einer Stute hatte sich ein Follikel herangebildet der nicht zur Ovulation kam und der vermutlich Luteinzellen in seiner Wand geformt hatte. Insgesamt war aber eine Vorhersage des Ovulationszeitpunktes anhand des Progesteronverlaufs nicht möglich.

Bei zwei Dritteln der Stuten konnten zwar Größenwachstum und andere Parameter der Follikelentwicklung beobachtet werden, ohne daß aber dadurch eine Vorhersage des Ovulationszeitpunktes möglich gewesen wäre. Bei dem restlichen Drittel ergab jedoch die Kombination der Konsistenzbeurteilung durch die rektale Palpation mit den Ergebnissen der Sonographie sichere Hinweise für eine Ovulation innerhalb der folgenden 12 Stunden.

5. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, anhand von rektalen palpatorischen und sonographischen Untersuchungen Merkmale zu finden, die eine Vorhersage des Ovulationszeitpunktes ermöglichen. An 46 Traber- und 15 Warmblutstuten wurden insgesamt 101 Ovulationen beobachtet. Dazu wurden die Stuten rektal manuell und mit einem Linearscanner (5 MHz) in einem 12-Stunden-Rhythmus untersucht. Soweit es möglich war, wurden pro Tag zusätzlich Blut- (Serum und Plasma) und Milchproben entnommen.

Die Ultraschalluntersuchungen zeigten klar die Größenentwicklung der Follikel und bestätigten viele der palpatorisch erhobenen Angaben über die Ovulation. Deutlich wurde auch, daß der Ovulationsvorgang innerhalb von wenigen Minuten ablaufen muß. Des weiteren ermöglichten die sonographischen Befunde die Bestimmung von Merkmalen präovulatorischer Follikel, wie Form, Wanddicke, Erkennbarkeit der Follikelwand und Echogenität der Follikelflüssigkeit.

Zur Vorhersage des Ovulationszeitpunktes für die künstliche Besamung müssen Befunde der Ultraschalluntersuchung und der rektalen Palpation kombiniert werden. Bei einem Drittel der Stuten konnte dadurch eine Aussage über die innerhalb der nächsten 12 Stunden erfolgende Ovulation gemacht werden. Bei den restlichen zwei Dritteln der Stuten waren keine Befunde zur Vorhersage des Ovulationszeitpunktes festzustellen. Kurz nach der Ovulation war aber

in diesen Fällen meist ein junges Corpus luteum im Ultraschallbild zu erkennen. Nur in wenigen Ausnahmen mußte die Ovulation allein durch das Fehlen des präovulatorischen Follikels bei der Nachuntersuchung registriert werden.

Die Progesteronwerte in Blut und Milch bestätigten die Befunde der Ultraschalluntersuchungen. Wurde sonographisch eine Ovulation festgestellt, war spätestens zwei Tage danach im Blut und drei Tage danach in der Milch ein signifikanter Progesteronanstieg als Merkmal für ein funktionsfähiges Corpus luteum nachweisbar.

6. Summary

"Ultrasonic examinations for predicting the ovulation for the artificial insemination in the mare"

The object of this work was to find marks for predicting the moment of ovulation by rectal palpation and sonographic examination. There were observed 101 ovulations in 46 trotter- and 15 warm-blooded mares. The mares were examined every 12 hours by rectal palpation and with a linear scanner (5 MHz). Additional blood- (serum and plasma) and milk samples were taken, if it was possible.

The ultrasonic examinations showed clearly the process of growing of the follicles and proved most of the perceptions about the ovulation in the mare, which were collected by palpation. It became clear, too, that the process of ovulation takes place within few minutes. Further more the sonographic statements made it possible to determine aspects of the preovulatory follicle like shape, wall width, perceptibility of the follicle wall and the echogenicity of the follicular fluid.

The statements of the ultrasonic examination and the rectal palpation had to be combined to predict the moment of ovulation for the artificial insemination. The right statement, that the ovulation will happen the following 12 hours, could be given for one third of the mares. The other two thirds did not show signs

for predicting the moment of the ovulation. In most of these cases a corpus luteum could be recognized on the ultrasonic screen shortly after the ovulation. Only in few exceptions the ovulation had to be recorded by missing the preovulatory follicle during the reexamination.

The level of progesterone in the blood- and milk samples confirmed the ultrasonic statements. If an ovulation was diagnosed sonographically, the concentration of progesterone significantly increased in the blood not later than two days and in the milk three days later, as a criterium for a functional corpus luteum.

7. Literaturverzeichnis

- ALLEN, W.E. and J.C. HADLEY (1974):
Blood progesterone concentration in pregnant and non-pregnant mares.
Equine Vet.J. 6, 87-93.
- ALLEN, W.E. and D.J. PORTER (1987):
Comparison of radioimmunoassay and enzyme-linked immunoassay for the measurement of progesterone in equine plasma and milk.
Vet.Rec. 120, 429-431.
- ANAND, A.S., B.C. WENTWORTH, F.D. PLOTKA, J.L. SULLIVAN and N.L. FIRST (1973):
Blood LH and progesterone level changes during the estrous cycle of the mare.
J.Anim.Sci. 37, 299.
- ANDRES, E.F. (1985):
Untersuchungen zur diagnostischen Terminierung des Ovulationszeitpunktes bei der Stute.
Vet.med.Diss., Hannover.
- ANDREWS, F.N. and F.F. MCKENZIE (1941):
Estrus, ovulation and related phenomena in the mare.
Agri.Exp.Sta.Res.Bull. 329, 1-117.
- ARTHUR, G.H. (1969):
The ovary of the mare in health and disease.
Equine Vet.J. 1, 153-156.
- BAILES, G. and R.J. HOLDSWORTH (1978):
Progestagens in mares' milk.
Br.vet.J. 134, 214-216.
- BREDE, D. (1979):
Vaginalzytologische, vaginalhistologische und hormonanalytische Untersuchungen zum Geschlechtszyklus der Stute.
Vet.med.Diss., Hannover.
- BROOK, D. (1982):
Detecting ovulation in mares.
Vet.Med.Small Anim.Clin. 77, 1059-1067.
- CHEVALIER, F. and E. PALMER (1982):
Ultrasonic echography in the mare.
J.Reprod.Fert., Suppl. 32, 423-430.
- DAY, F.T. (1940):
Clinical and experimental observations on reproduction in the mare.
J.agric.Sci. 30, 245-261.

DeBOIS, C.H.W. und D. NITSCHHELM (1982):
Vorbemerkungen zur Fortpflanzungsphysiologie der Stute.
In: Krankheiten des Pferdes, ein Leitfaden für Studium und Praxis, H.-J. WINTZER (Hrsg.), 210-215, Parey, Berlin und Hamburg.

DONALD, I. (1977):
Ultrasonic investigations in obstetrics and gynecology.
In: Biomedical Ultrasonics. P.N.T. WELLS (Ed.), Academic Press, London and New York.

DUFOUR, J., H.L. WHITMORE, O.J. GINTHER and L.E. CASIDA (1972):
Identification of the ovulating follicle by its size on different days of the estrous cycle in heifers.
J.Anim.Sci. 34, 85-87.

ENBERGS, H. und J. GENTZ-RICHTER (1982):
Ergebnisse aus Progesteronprofilen der Milch von Stuten zum Zeitpunkt der Geburt bis zur Frühträchtigkeit.
VII. Veterinär-Humanmedizinische Tagung, Gießen 18.-20.2.82, Alete Bericht 154-156.

EUROPEAN COMMITTEE FOR ULTASONIC RADIATION SAFETY (1985):
Statement des "European Committee for Ultrasound Radiation Safety": Unbedenklichkeit des Ultraschalls zu diagnostischen Zwecken.
Ultraschall 6, 172.

FRASER, A.F., N.W. KEITH and H. HASTIE (1973):
Summarised observations on the ultrasonic detection of pregnancy and foetal life in the mare.
Vet.Rec. 92, 20-21.

GENTZ, I. (1982):
Progesteronprofile aus der Milch von Stuten vom Zeitpunkt des Fohlens bis zur erneuten Frühträchtigkeit.
Diss.agr., Bonn.

GINTHER, O.J. (1979):
Reproductive biology of the mare: Basic and applied aspects.
Published by Equiservices, Cross Plains, Wisconsin, USA.

GINTHER, O.J. (1983a):
Mobility of the early equine conceptus.
Theriogenology 19, 603-611.

GINTHER, O.J. (1983b):
Fixation and orientation of the early equine conceptus.
Theriogenology 19, 613-623.

GINTHER, O.J. (1986):
Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare.
Published by Equiservices, Cross Plains, Wisconsin, USA.

- GINTHER, O.J. and R.A. PIERSON (1984a):
Ultrasonic evaluation of the reproductive tract of the mare:
Ovaries.
J.Equine Vet.Sci. 4, 11-16.
- GINTHER, O.J. and R.A. PIERSON (1984b):
Ultrasonic anatomy of equine ovaries.
Theriogenology 21, 471-483.
- GINTHER, O.J. and R.A. PIERSON (1984c):
Ultrasonic anatomy and pathology of the equine uterus.
Theriogenology 21, 505-516.
- GINTHER, O.J., H.L. WHITMORE and E.L. SQUIRES (1972):
Characteristics of estrus, diestrus and ovulation in mares and
effects of season and nursing.
Am.J.vet.Res. 33, 1935-1939.
- GUNTHER, J.D., C.W. FOLEY and E.D. PLOTKA (1978):
Patterns of milk and blood plasma progesterone concentrations in
cycling and pregnant mares.
J.Anim.Sci. 46 (Suppl.1), 363.
- GUNTHER, J.D., C.W. FOLEY, H.A. GAVERICK and E.D. PLOTKA (1980):
Comparison of milk and blood plasma progesterone concentrations
in cycling and pregnant mares.
J.Anim.Sci. 51, 1131-1138.
- HACKELÖER, B.-J. und H.P. ROBINSON (1978):
Ultraschalldarstellung des wachsenden Follikels und Corpus luteum
im normalen physiologischen Zyklus.
Geburtsh.Frauenheilk. 38, 163-168.
- HANSMANN, M., B.-J. HACKELÖER und A. STAUDACH (1985):
Ultraschalldiagnostik in Geburtshilfe und Gynäkologie.
Lehrbuch und Atlas.
Springer Verlag, Berlin, Hamburg, New York, Tokyo.
- HEINZE, H. (1975):
Pelviscopy in the mare.
J.Reprod.Fert., Suppl. 23, 319-321.
- HOFFMANN, B. und R. HAMBURGER (1973):
Progesteron in der Milch: Radioimmunologische Bestimmung, Bezie-
hungen zur Gelbkörperfunktion und MilCHFETTKonzentration.
Zuchthyg. 8, 154-162.
- HOFFMANN, B., H.J. KYREIN and M.L. ENDER (1973):
An efficient procedure for the determination of progesterone by
radioimmunoassay applied to bovine peripheral plasma.
Horm.Res. 4, 302-310.

HOLTAN, D.W., T.M. NETT and V.L. ESTERGREEN (1973):
Plasma progestins in pregnant and cycling mares.
J.Anim.Sci. 37, 315.

HOUSEHOLDER, D.D., J.L. FLEEGER, Y.H. CLAMANN and A.M. SORENSEN,
Jr. (1974):
Criteria for detecting ovulation in the mare.
J.Anim.Sci. 39, 212.

HUGHES, J.P., G.H. STABENFELDT and J.W. EVANS (1972):
Estrous cycle and ovulation in the mare.
J.Am.vet.med.Ass. 161, 1367-1374.

HUGHES, J.P., G.H. STABENFELDT and J.W. EVANS (1975):
The oestrus cycle of the mare.
J.Reprod.Fert., Suppl. 23, 161-166.

HUNT, B., D.H. LEIN and R.H. FOOTE (1978):
Monitoring of plasma and milk progesterone for evaluation of
postpartum estrous cycles and early pregnancy in mares.
J.Am.vet.med.Ass. 172, 1298-1302.

IRVINE, C.H.G. (1981):
Endocrinology of the estrous cycle of the mare: applications to
embryo transfer.
Theriogenology 15, 85-104.

KÄHN, W. und W. LEIDL (1984a):
Befunde der Ultraschalluntersuchung von Stuten: Differentialdia-
gnose zur Frühgravidität.
IX. Veterinär-Humanmed. Gemeinschaftstagung, Hannover 23.-
24.2.1984, 230-233.

KÄHN, W. und W. LEIDL (1984b):
Die Ultraschalldiagnostik (Echographie) in der gynäkologischen
Untersuchung der Stute.
Tierärztl. Praxis 12, 203-210.

KÄHN, W. und W. LEIDL (1985):
Sonographische Befunde am Uterus von Stuten mit Ultraschall bei
einer Frequenz von 5 MHz.
Pferdeheilkunde 5, 239-246.

KÄHN, W. und W. LEIDL (1987):
Echographische Befunde an Ovarien von Stuten.
Tierärztl.Umschau 42, 257-266.

KOLB, E. (1984):
Die Biochemie und Pathobiochemie der Ausreifung der Eizellen.
In: Biochemie und Pathobiochemie der Fortpflanzung, E. KOLB
(Hrsg.), 1.Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena.

LEIDL, W. und W. KÄHN (1984):

Differentialdiagnostische Befunde bei der Frühträchtigkeitsuntersuchung von Stuten mit dem Ultraschallverfahren (Echographie).
Vlaams Diergeneesk. Tijdschr. 53, 170-179.

LEPEL, J., Frhr. von (1976):

Follikelkontrolle und Trächtigkeitsuntersuchung beim Pferd.
Prakt. Tierarzt 57, 143-148.

LOTZEMER-JENTGES, K., H. ENBERGS und H. SOMMER (1979):

Progesteronkonzentrationen im Blutplasma von Stuten während des Zyklus, der Frühträchtigkeit und bei Fruchtresorption.
Zuchthyg. 14, 90.

LOY, R.G. (1970):

The reproductive cycle of the mare.

Lectures of stud managers' course, Lexington, Ky., 20-30.

MCDONALD, L.E. (1980):

Reproductive patterns of horses.

In: Veterinary Endocrinology and Reproduction, L.E. McDONALD (Ed.), 3rd edition, Lea and Febiger, Philadelphia.

MERKT, H. (1970):

Zur Zyklusdiagnose beim landwirtschaftlichen Nutztier: Pferd.
Der Tierzüchter 22, 220-221.

MERKT, H., A.-R. GÜNZEL, W. ABEL und R. MATTOS (1983):

Echographie - eine Ergänzung der gynäkologischen Untersuchungsmethoden zur Zyklus- und Trächtigkeitsdiagnostik beim Pferd.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 90, 225-230.

MITCHELL, D. (1973):

Detection of foetal circulation in the mare and cow by doppler sound.

Vet. Rec. 93, 365-368.

NISHIKAWA, Y. (1959):

Studies on reproduction in horses.

Japan Racing Association, Tokyo.

PALMER, E. and B. JOUSSET (1975):

Urinary oestrogen and plasma progesterone levels in non-pregnant mares.

J. Reprod. Fert., Suppl. 23, 213-221.

PALMER, E. and M.A. DRIANCOURT (1980):

Use of ultrasonic echography in equine gynecology.
Theriogenology 13, 203-216.

PARK, R.D., T.G. NYLAND, J.C. LATTIMER, C.W. MILLER and J.L.

LEBEL (1981):

B-mode gray-scale ultrasound: Imaging artifacts and interpretation principles.

Vet. Rad. 22, 204-210.

PARKER, W.G. (1971):

Sequential changes of the ovulating follicle in the estrous mare as determined by rectal palpation.

Proc. Ann. Conf. Vet., College Vet. Med. and Bio. Med. Sci., Colorado State University, Fort Collins, Colorado.

PIERSON, R.A. and O.J. GINTHER (1985a):

Ultrasonic evaluation of the corpus luteum of the mare.

Theriogenology 23, 795-806.

PIERSON, R.A. and O.J. GINTHER (1985b):

Ultrasonic evaluation of the preovulatory follicle in the mare.

Theriogenology 24, 359-368.

PLOTKA, E.D., D.M. WITHERSPOON and C.W. FOLEY (1972):

Luteal function in the mare as reflected by progesterone concentrations in peripheral blood plasma.

Am. J. vet. Res. 33, 917-920.

PLOTKA, E.D., C.W. FOLEY, D.M. WITHERSPOON, G.C. SCHMOLLER and

D.D. GOETSCH (1975):

Perioovulatory changes in peripheral plasma progesterone and estrogen concentrations in the mare.

Am. J. vet. Res. 36, 1359-1362.

RANTANEN, N.W. and R.L. EWING (1981):

Principles of ultrasound application in animals.

Vet. Rad. 22, 196-203.

RAUSCHELBACH, E. und W. ENBERGS (1982):

Ergebnisse bei der Überwachung der Frühträchtigkeit von laktierenden Stuten durch regelmäßige Kontrolle des Progesteronspiegels der Milch.

VII. Veterinär-Humanmedizinische Tagung, Gießen 18.-20.2.82,

Alete Bericht 163-165.

ROSSDALE, P.D. and S.W. RICKETTS (1983):

Events leading to conception.

In: Equine Stud Farm Medicine, P.D. ROSSDALE and S.W. RICKETTS (Eds.), 2nd edition, 1-119, Baillière Tindall, London.

SCHAETZ, F. (1982):

Krankheiten und Fortpflanzungsstörungen der weiblichen Geschlechtsorgane.

In: Handbuch der Pferdekrankheiten für Wissenschaft und Praxis, O. DIETZ und E. WIESNER (Hrsg.), Bd. II, 709-732, Verlag Karger, Basel.

SHARP, D.C. and D.L. BLACK (1973):

Changes in peripheral plasma progesterone throughout the oestrus cycle of the pony mare.

J. Reprod. Fert. 33, 535.

SHORT, R.V. (1959):

Progesterone in blood. IV. Progesterone in the blood of mares.
J.Endocrinol. 19, 207-210.

SIMPSON, D.J., R.E.S. GREENWOOD, S.W. RICKETTS, P.D. ROSSDALE, M. SANDERSON and W.R. ALLEN (1982):

Use of ultrasound echography for early diagnosis of single and twin pregnancy in the mare.

J.Reprod.Fert., Suppl. 32, 431-439.

SMITH, T.D., J.M. BASSETT and T. WILLIAMS (1970):

Progesterone concentrations in the peripheral plasma of the mare during the oestrous cycle.

J.Endocr. 47, 523-524.

SQUIRES, E.L., B.C. WENTWORTH and O.J. GINTHER (1974):

Progesterone concentration in blood of mares during the estrous cycle, pregnancy and after hysterectomy.

J.Anim.Sci. 39, 759-767.

STABENFELDT, G.H. and J.P. HUGHES (1977):

Reproduction in horses.

In: Reproduction in domestic animals, H.H. COLE and P.T. CUPPS (Eds.), 3rd edition, 401-431, Academic Press New York, San Francisco, London.

STABENFELDT, G.H., J.P. HUGHES and J.W. EVANS (1972):

Ovarian activity during the estrous cycle of the mare.

J.Endocr. 20, 1379-1384.

STEWART, H.F. and R.M. MOORE, Jr. (1984):

Development of health risk evaluation data for diagnostic ultrasound: A historical perspective.

J.Clin.Ultrasound 12, 493-500.

STOLLA, R. und W. LEIDL (1979):

Zur Progesteronkonzentration in der Milch der Stute.

Zuchthyg. 14, 90.

STOLLA, R. und H. BADER (1984):

Milchprogesteronkonzentration bei Stuten im post-partalen Zeitraum und in der frühen Trächtigkeit.

Zuchthyg. 19, 7-13.

STOLLA, R., A.-R. GÜNZEL und H. BADER (1980):

Control of ovarian activity by milk progesterone determination in mares.

IX. Int.Congr.Anim.Reprod.Artif.Insem., Madrid 16-20 June 1980, Vol. 4, 206-209.

TORBECK, R.L. (1986):

Diagnostic ultrasound in equine reproduction.

In: The veterinary clinics of North America, Equine Practice, Diagnostic ultrasound, N.W. RANTANEN (Ed.), vol.2, nr.1, W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Van RENSBURG, S.W.J. and J.S. Van HEERDEN (1953):

Infertility in mares caused by ovarian dysfunction.

Onderstepoort J.Vet.Res. 26, 285-313.

WARSAWSKY, L.F., W.G. PARKER, N.L. FIRST and O.J. GINTHER

(1972):

Cross changes of internal genitalia during the estrous cycle in the mare.

Am.J.vet.Res. 33, 19-26.

WATZKA, M. (1957):

Weibliche Genitalorgane: Das Ovarium.

In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen (Siebenter Band), Harn- und Geschlechtsapparat (Dritter Teil), W. v. MÖLLEN-DORFF (Hrg.), Verlag: Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.

WITHERSPOON, D.M. and R.B. TALBOT (1970):

Nocturnal ovulation in the equine animal.

Vet.Rec. 87, 302-304.

ZISKIN, M.C. (1986):

World policies on the use of diagnostic ultrasound in obstetrics. The American Institute of Ultrasound policy and statement on safety.

Ultrasound in Medicine and Biology 12, 711-714.

Herrn Professor Dr. W. Leidl möchte ich an dieser Stelle sehr herzlich für die Überlassung des interessanten Themas, seine immer gewährte großzügige Unterstützung und sein Interesse an meiner Arbeit danken.

Herrn Ministerialrat Dr. G. Koller vom Bayerischen Staatsministerium ELF, dem Traber-Zuchtfonds Bayern e.V., hier besonders dem Vorsitzenden Herrn Dr. M. Schmid und Herrn Dr. K. Schwarz danke ich für die Bereitstellung des Untersuchungsmaterials.

Besonders dankbar bin ich Herrn PD Dr. R. Stolla für die wertvollen Ratschläge bei der Durchsicht und Überarbeitung der Dissertation.

Herrn Dr. W. Kähn sage ich Dank für die guten Anregungen und die freundliche Hilfe bei der Darstellung der Graphiken.

Allen Mitarbeitern der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik gilt mein herzlicher Dank, ganz besonders Frau B. Schüssler, Frau M. Kraus, Fräulein E. Schorer und Herrn P. Popovici.

Lebenslauf:

Am 26. Oktober 1958 wurde ich als Sohn des Dipl.Ing. Kurt Will und seiner Ehefrau Inge, geb. Mische, geboren.

1965 - 68: Besuch der Pestalozzi-Schule in Ludwigshafen-Oppau

1968 - 77: Besuch des Carl-Bosch-Gymnasiums in Ludwigshafen/Rh.

1977 : Abitur

1977 - 78: Wehrdienst als Sanitäter in Marburg und Kassel

1978 - 79: Landwirtschaftliches Praktikum in Laubach

1979 - 80: Studium der Agrarwissenschaften an der Universität für
Bodenkultur in Wien, Österreich

1980 - 81: Studium der Tiermedizin an der Reichsuniversität in
Gent, Belgien

1981 - 82: Studium der Tiermedizin an der Freien Universität
Berlin

1982 - 85: Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-
Universität in München

1986 : Approbation als Tierarzt
Beginn der Dissertation

